



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

TRANSPORTNÍ PROCESY V HYDROGELECH

TRANSPORT PROCESSES IN HYDROGELS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. Michaela Sárová

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

BRNO 2017

Zadání diplomové práce

Číslo práce: FCH-DIP1016/2016
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Bc. Michaela Sárová**
Studijní program: Spotřební chemie
Studijní obor: Spotřební chemie
Vedoucí práce: **prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.**
Akademický rok: 2016/17

Název diplomové práce:

Transportní procesy v hydrogelech

Zadání diplomové práce:

Seznámit se s problematikou transportních procesů v hydrogelech, literární rešerše. Zvolit vhodný způsob studia, vybrat systémy vhodné pro studium a metody analýzy. Navrhnout a realizovat vlastní experimenty, zpracovat data a vyvodit závěry ze získaných výsledků.

Termín odevzdání diplomové práce: 5.5.2017

Diplomová práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí diplomové práce.

Bc. Michaela Sárová
student(ka)

prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Náplní této diplomové práce je studium transportních procesů v hydrogelech na bázi huminových kyselin. K tomuto účelu bylo využito metody neustálené difuze v kyvetách, kdy byl zkoumán transport organických barviv, konkrétně methylenové modři a rhodaminu 6G, v agarosovém hydrogelu bez přídavku a s přídavkem jednotlivých standardů huminových kyselin (Leonardite, Elliott Soil, Suwannee River II a Pahokee Peat). Tato metoda je založena na spektrofotometrickém sledování koncentračních změn barviva v prostoru kyvety v čase.

Cílem práce bylo prozkoumat vlivy interakcí mezi difundujícím barvivem a příslušným typem gelu na výsledný efektivní difuzní koeficient barviva. Z provedených experimentů vyplývá, že přítomnost huminové kyseliny v hydrogelu značně ovlivňuje transport vybraných barviv.

ABSTRACT

This master's thesis is focused on study of transport processes in hydrogels based on humic acids. For this purpose is used methods unsteady diffusion in cuvettes, which was studied the transport of organic dyes, specifically methylene blue and rhodamine 6G, in agarose hydrogel without the addition and with the addition of individual standards humic acids (Leonardite, Elliott Soil, Suwannee River II and Pahokee Peat). This method is based on spectrophotometric monitoring of concentration changes of dyes depending on space of the cuvette and on time.

The aim of this thesis was to investigate the effects of interactions between diffusing dye and the particular type of gel to the resultant effective diffusion coefficient of dye. The experiments indicate that the presence of humic acid in the hydrogel greatly affects the transport of selected dyes.

KLÍČOVÁ SLOVA

neustálená difuze, difuze v kyvetách, huminové kyseliny, hydrogely, methylenová modř, rhodamin 6G

KEYWORDS

unsteady diffusion, diffusion in cuvette, humic acids, hydrogels, methylene blue, rhodamine 6G

SÁROVÁ, M. *Transportní procesy v hydrogelech*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2017. 68 s. Vedoucí diplomové práce prof. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

Bc. Michaela Sárová

Poděkování:

Velmi ráda bych tímto poděkovala vedoucí práce prof. Ing. Martině Klučákové, Ph.D. za vstřícnost, odborné rady, energii a čas, které mi během vypracovávání této diplomové práce věnovala.

OBSAH

1 Úvod	7
2 Teoretická část	8
2.1 Huminové látky	8
2.1.1 Vznik huminových látek	8
2.1.2 Dělení a vlastnosti huminových látek	9
2.1.3 Struktura huminových látek	11
2.1.4 Vazebné možnosti huminových látek	15
2.1.5 Využití huminových látek	16
2.1.6 Standardy huminových kyselin	17
2.2 Organická barviva	18
2.2.1 Methylenová modř	18
2.2.2 Rhodamin 6G	19
2.3 Gely	20
2.3.1 Vznik gelů	20
2.3.2 Dělení gelů	20
2.3.3 Vlastnosti gelů	22
2.3.4 Využití gelů	24
2.3.5 Agarosa	24
2.4 Difuze	27
2.4.1 Fickovy zákony	27
2.4.2 Difuzní koeficient	28
2.4.3 Ustálená difuze	30
2.4.4 Neustálená difuze	31
2.4.5 Ovlivnění hodnoty difuzního koeficientu	36
2.5 Současný stav řešené problematiky	37
2.5.1 Studium interakcí barviv s huminovými látkami	37
2.5.2 Studium interakcí jiných látek s huminovými látkami	39
2.5.3 Difuze barviv v huminových gelech	39
2.5.4 Difuze jiných látek v huminových gelech	40

3 Experimentální část.....	41
3.1 Použité chemikálie.....	41
3.2 Použité přístroje.....	41
3.3 Příprava difuzních roztoků	41
3.4 Příprava roztoku huminových kyselin.....	42
3.5 Příprava hydrogelů	42
3.6 Vlastní experiment.....	42
3.7 Infračervená spektroskopie.....	43
4 Výsledky a diskuze	44
4.1 Charakterizace použitých huminových kyselin.....	44
4.1.1 Elementární analýza.....	44
4.1.2 Infračervená spektroskopie	45
4.2 Kalibrační křivky difuzních roztoků	46
4.3 Absorpční spektra huminových kyselin v gelu	46
4.4 Kalibrační křivky huminových kyselin v agarosovém gelu	47
4.5 Difuzní experimenty – sorpční část	47
4.6 Difuzní experimenty – desorpční část	48
4.6.1 Difuze v agarosovém gelu	49
4.6.2 Difuze v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Leonardite	52
4.6.3 Difuze v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Elliott Soil.....	53
4.6.4 Difuze v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Suwannee River II.....	54
4.6.5 Difuze v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Pahokee Peat.....	55
4.6.6 Porovnání výsledků difuzních experimentů v různých typech gelů	56
4.6.7 Porovnání výsledků difuzních experimentů této práce s výsledky difuzních experimentů bakalářské práce	57
5 Závěr.....	60
6 Seznam použitých zdrojů.....	61
7 Seznam použitých symbolů a zkratk	67
7.1 Použité symboly	67
7.2 Použité zkratky	68

1 ÚVOD

Huminové látky jsou látky přírodního charakteru, které patří mezi nejrozšířenější organické látky na Zemi. Nacházejí se v půdách, vodách či jiných složkách životního prostředí. Jsou rozmanitého původu a dle toho se odvíjí i jejich vlastnosti. Tyto látky představují jednu ze složek humusu, jež tvoří část půdní hmoty. Vlastnosti humusu ve spojitosti s úrodností půdy jsou lidem známy již poměrně dlouho.

Pod pojmem huminové látky se skrývají celkem tři frakce, přičemž huminové kyseliny, kterým se tato práce věnuje, lze označit za jejich nejstudovanější frakci. Ohledně charakterizace těchto látek byly provedeny mnohé studie, ovšem co se týče reaktivity, bariérových a transportních vlastností, tak jsou informace nedostatečné. Doposud totiž neexistuje univerzální metoda, jež by umožnila tyto vlastnosti studovat.

V přírodě se huminové kyseliny nacházejí převážně ve formě hydrogelů nebo půdních roztoků, proto jsou v této práci huminové kyseliny studovány pomocí difuzních metod v hydrogelové formě, která simuluje přirozené podmínky těchto látek. Difuzní metody tak poslouží k lepšímu pochopení transportních vlastností huminových látek, ať už v souvislosti s transportem znečišťujících látek či naopak živin v přírodním prostředí. Získané informace je možné uplatnit i v kontextu využití těchto látek, jakožto nosičů či sorbentů.

Tato diplomová práce je rozdělena do několika větších celků. Teoretická část je zaměřena na přiblížení použitých substancí (huminové látky, agarosa, organická barviva) a dále pak na problematiku gelových systémů a difuzních procesů. V experimentální části je pak nastíněn průběh samotných experimentů a následující část je věnována zhodnocení výsledků provedených experimentů, diskuzi a porovnání vlivu jednotlivých vzorků huminových kyselin na transport použitých organických barviv.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Huminové látky

Huminové látky patří mezi přírodní organické sloučeniny vzniklé chemickou a biologickou degradací organické hmoty ve formě rostlinných a živočišných zbytků a syntetickou činností mikroorganismů. Chemicky se jedná o složité vysokomolekulární polycyklické sloučeniny, jejichž relativní molekulová hmotnost se pohybuje v rozmezí stovek až desítek tisíců. [1] [2] [3] [4]

Řadí se mezi nejrozšířenější přirozeně se vyskytující organické látky na Zemi. Huminové látky můžeme najít zejména v sedimentech, zeminách, rašelině, hnědém uhlí, lignitu, vodách a jiných materiálech. Ve stopových množstvích se huminové a fulvinové kyseliny nachází například v píscích a jílech a jejich největší obsah je pak v lignitu či rašelině. Jednotlivé procentuální zastoupení v těchto materiálech uvádí tabulka 1. [1] [2] [5]

Tabulka 1: Obsah huminových a fulvinových kyselin v přírodních matricích [1], upraveno

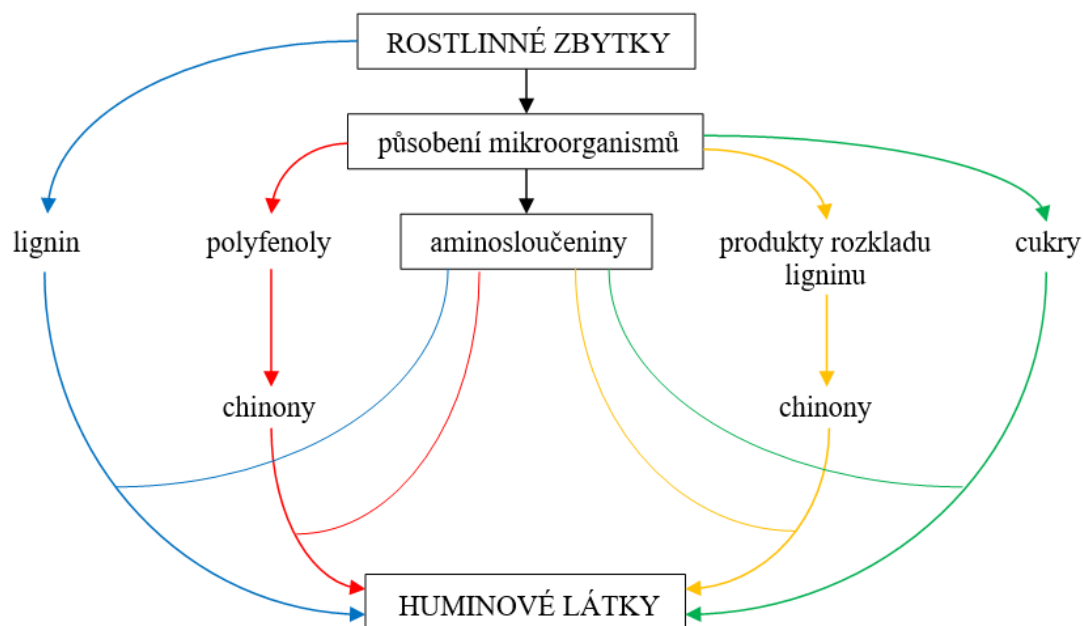
přírodní zdroj	obsah huminových a fulvinových kyselin (hm. %)
leonardit, lignit	40–85
rašelina	10–40
hnědé uhlí	10–30
hnůj	5–15
kompost	2–5
půda	1–5
kal	1–5
černé uhlí	0–1

Jedním z nejlepších zdrojů pro izolaci huminových látek je právě lignit. Mimo to je lze získat například i z kompostů, upravených odpadů z dřevařského či potravinářského průmyslu nebo také z kalů z čistíren odpadních vod. K izolaci huminových látek se v těchto případech využívá alkalické extrakce s následným vysrážením kyselinami. [5]

Huminové látky jsou pro přírodu důležité, jelikož napomáhají vytvářet příznivé prostředí pro půdní mikroorganismy, usnadňují transport živin z půdy do rostlin a vylepšují vlastnosti a strukturu půd. [5]

2.1.1 Vznik huminových látek

Huminové látky vznikají procesem souhrnně zvaným jako humifikace. Tento proces zahrnuje řadu biochemických reakcí. Existuje hned několik možných mechanismů vzniku huminových látek, a i přesto není zcela objasněno, jak tyto látky vlastně ve skutečnosti vznikají. Mezi hlavní tři teorie patří ligninová teorie, polyfenolová teorie a teorie kondenzace cukrů s aminy. Schématické znázornění těchto teorií je uvedeno na obrázku 1. Obecně se při popisu vzniku huminových látek mluví o degradační a syntetické teorii. Nicméně všechny tyto teorie se shodují na tom, že huminové látky vznikají z rostlinného nebo živočišného materiálu. [1] [3]



Obrázek 1: Teorie vzniku huminových látek [1], upraveno

U degradační teorie se vychází z předpokladu, že huminové látky vznikají depolymerizací biopolymerů, přesněji mikrobiálním rozkladem odumřelého rostlinného materiálu. Degradací těžko rozložitelných látek jako je například lignin, kutin či melanin nejprve vznikají vysokomolekulární huminy. Ty jsou dále postupně oxidovány přes huminové kyseliny až na fulvinové kyseliny. V případě, že degradační mechanismus pokračuje dále, jsou huminové látky rozloženy až na konečné produkty, tzn. oxid uhličitý a vodu. [1] [3]

Co se syntetické teorie týče, tak ta je založena na polymeraci malých sloučenin. Složitějších látky se tedy syntetizují z menších molekul, jako jsou například karboxylové sloučeniny, fenoly a jiné, jež byly uvolněny degradací rostlinných tkání. Podle této teorie by nejdříve tedy vznikaly fulvinové kyseliny, poté huminové kyseliny a nakonec huminy. [1] [3]

Při procesu humifikace se pravděpodobně uplatňují oba tyto mechanismy, tedy nejprve vzniknou degradací ligninu malé molekuly, ze kterých se následně syntézou vytvoří huminové kyseliny a ty jsou pak oxidací a fragmentací transformovány na fulvinové kyseliny. V půdních ekosystémech patrně dominuje syntetický mechanismus vzniku huminových látek. Ve vodách pak zřejmě tyto látky vznikají degradačními postupy. [3]

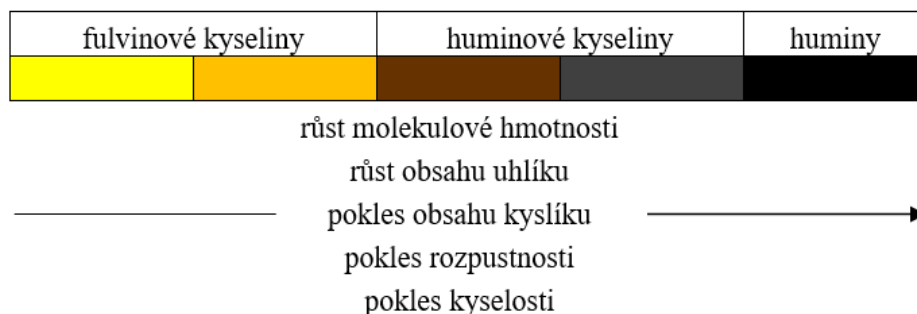
2.1.2 Dělení a vlastnosti huminových látek

Organická hmota je nejdůležitější částí půdy, jelikož je zodpovědná za její fyzikální, chemické a biologické vlastnosti. Dělí se na živý a mrtvý organický materiál (neboli aktivní a stabilní organickou hmotu). Živý organický materiál zahrnuje rostlinné zbytky, biomasu a nehumusové látky. Mrtvý organický materiál zvaný taky jako humus je označení pro mrtvá rezidua. Tuto část organické hmoty lze dále dělit na dvě skupiny látek, a to huminové a nehuminové. Termínem nehuminové látky označujeme ty látky, jež mohou být zařazeny do některé z biochemických kategorií. Patří sem cukry, aminokyseliny, proteiny, nukleové kyseliny aj. [1]

Pod pojmem huminové látky si lze představit směs různých frakcí humusu. Klasifikace těchto frakcí je založena na jejich rozpustnosti při různých hodnotách pH. Třemi základními frakcemi huminových látek jsou: [1] [2] [3] [4]

- fulvinové kyseliny – rozpustné v celém rozmezí pH,
- huminové kyseliny – rozpustné v zásadách, ale nerozpustné v kyselinách při $\text{pH} < 2$,
- huminy – nerozpustné v celém rozmezí pH.

Každá z frakcí má rozdílné chemické a fyzikální vlastnosti. Ohledně zbarvení huminových látek existuje teorie, která tvrdí, že tmavý odstín zbarvení je dán přítomností složek s vysokou molekulovou hmotností. Fulvinové kyseliny jakožto frakce s nejnižší molekulovou hmotností jsou zabarveny v rozmezí od světle žlutého po žlutohnědý odstín, naopak vysokomolekulární huminy jsou charakteristické černým zbarvením. [2] [4]

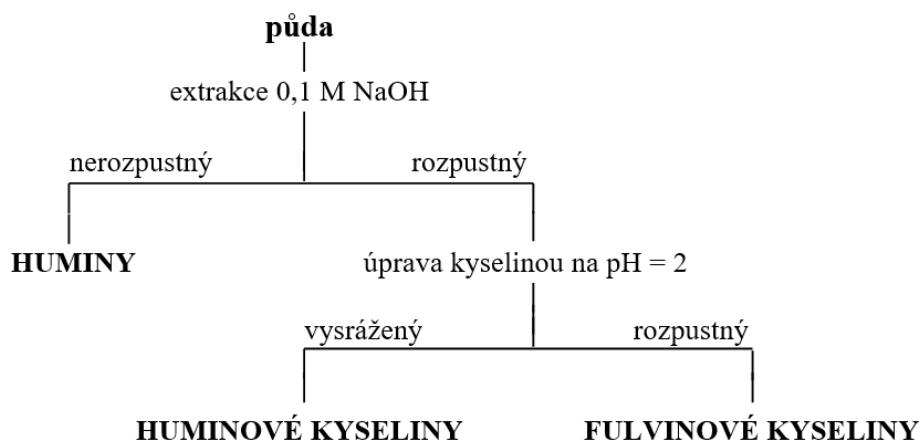


Obrázek 2: Vybrané vlastnosti a barevné odstíny jednotlivých frakcí huminových látek [4], upraveno

S nárůstem molekulové hmotnosti nedochází pouze ke změnám zbarvení ale také například ke změnám obsahu uhlíku a kyslíku či kyselosti, jak je ukázáno na obrázku 2. Fulvinové kyseliny, jak už bylo zmíněno, mají nejmenší molekulovou hmotnost. Z údajů o molekulové hmotnosti huminových látek, jež se pohybuje od 2 000 do 200 000, lze usuzovat, že molekulová hmotnost fulvinových kyselin je okolo 2 000 a naopak huminy mají molekulovou hmotnost až 200 000. Obsah uhlíku v huminových látkách se s rostoucí molekulovou hmotností zvyšuje a obsah kyslíku se naopak snižuje. Pro fulvinové kyseliny jsou tyto obsahy od 45 % uhlíku a cca 48 % kyslíku a pro huminy pak až 62 % uhlíku a okolo 30 % kyslíku. Dále lze z obrázku 2 vyčíst, že kyselost a rozpustnost jednotlivých frakcí klesá ve směru od fulvinových kyselin po huminy, tedy s rostoucí molekulovou hmotností. [2] [4]

Za nejdůležitější frakci jsou považovány huminové kyseliny, ty se podílejí až z 16 % na celkovém koloběhu uhlíku, kdežto fulvinové kyseliny a huminy se podílejí asi z 8 %. Huminové kyseliny představují 60–80 % celkového organického uhlíku v půdě. Společně s fulvinovými kyselinami tvoří 50–75 % rozpustné organické hmoty ve vodě. [1]

Huminové sloučeniny vykazují hydrofilní a kyselý charakter a mají, jak už bylo řečeno, velkou molekulovou hmotnost. Jednotlivé frakce se z půdy či jiných zdrojů získávají extrakcí, frakcionací a izolačními postupy, které zahrnují zásadité a kyselé roztoky (viz obrázek 3). Půdní organická hmota může být frakcionována několika metodami. Doposud se jako nejúčinnější extrakční činidlo jeví roztok hydroxidu sodného. V současnosti se využívají metody, které zahrnují gely a chromatografické kolony s aktivním uhlím. [1]



Obrázek 3: Schéma extrakce huminových látek z půdy [1], upraveno

Obecně jsou huminové látky definovány jako směs amorfních polydisperzních organických sloučenin se složitou strukturou. Právě od struktury těchto látek (kterou se zabývá následující kapitola) se odvíjí jejich vlastnosti jako je rozpustnost, schopnost agregace a disociace, vznik náboje, vazebné schopnosti, aj. Dále mohou být tyto vlastnosti ovlivněny velikostí molekul, stupněm dispergace nebo taky polaritou molekuly. Hlavní vliv pak mají funkční skupiny, tedy jejich druh, počet a disociační schopnosti. [1] [3]

2.1.3 Struktura huminových látek

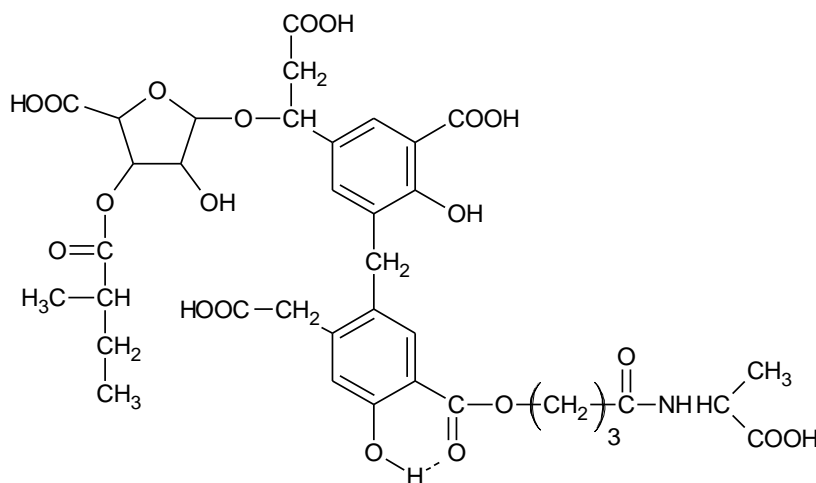
Struktura huminových látek je poměrně dost komplikovaná a doposud nebyla zcela přesně popsána. Všechny frakce huminových látek, bez ohledu na to, z jakého zdroje pocházejí, vždy obsahují tyto elementární prvky: uhlík, vodík, kyslík, dusík, malý obsah síry a fosforu. Procentuální zastoupení těchto prvků konkrétně ve fulvinových a huminových kyselinách je uvedeno v následující tabulce 2. Zajímavostí je, že uhlík v huminových kyselinách je podle vědců starý asi 750 let, ve fulvinových kyselinách zhruba 420 let a v huminech až 2 400 let. [1] [3]

Tabulka 2: Procentuální zastoupení prvků ve fulvinových a huminových kyselinách podle [3]

frakce	vztaženo na suchý vzorek bez popela			
	C (hm. %)	H (hm. %)	O (hm. %)	N (hm. %)
fulvinové kyseliny	44–49	3,5–5	44–49	2–4
huminové kyseliny	52–62	3–5,5	30–33	3,5–5

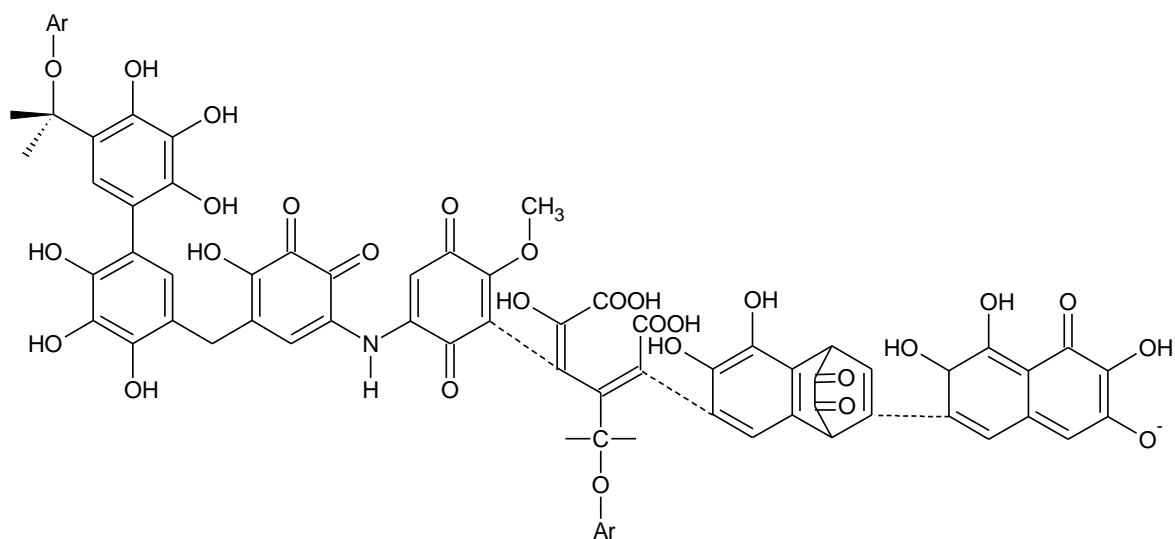
Převážnou část struktury huminových látek tvoří aromatická jádra, jež jsou vzájemně propojena alifatickými, často cyklickými řetězci. Typickými funkčními skupinami, jež mohou být navázány jak na aromatických jádrech, tak v postranních řetězcích, jsou především karboxylové a hydroxylové skupiny. Díky tomu jsou huminové látky řazeny do skupiny polyfenolů a polykarboxylových kyselin. Dalšími strukturními prvky, které tyto látky obsahují, jsou methoxylové a karbonylové skupiny, chinony, ethery, estery, alkoholy nebo také polysacharidy či polypeptidy. [1] [3]

Pravděpodobná struktura fulvinových kyselin je uvedena na obrázku 4. Z něj je patrné, že, fulvinové kyseliny obsahují poměrně velký počet kyselých funkčních skupin (převážně karboxylových), dále pak aromatické struktury a alifatické postranní řetězce. Prakticky všechny kyslík je v těchto sloučeninách obsažen ve funkčních skupinách. [1] [3]

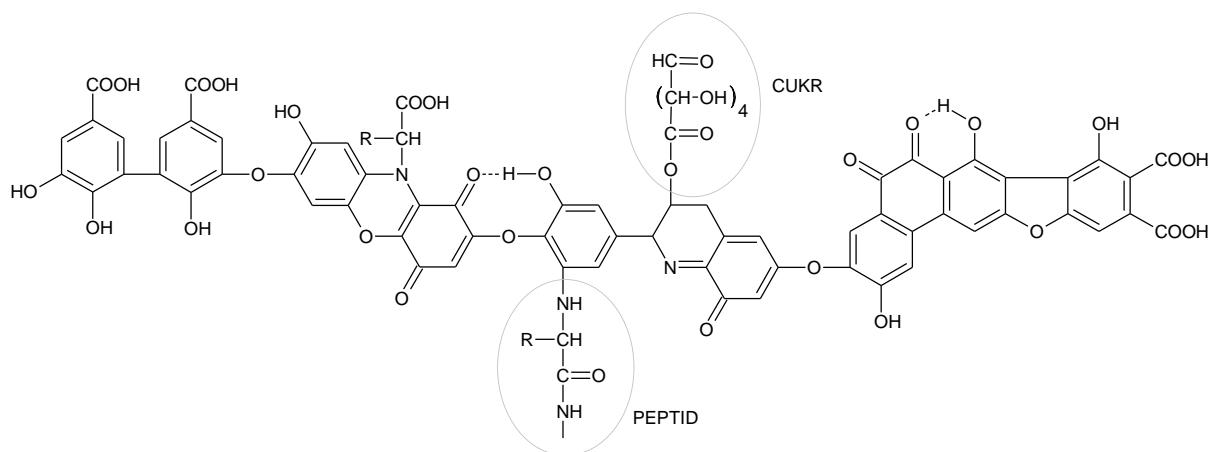


Obrázek 4: Hypotetická struktura fulvinových kyselin dle Buffleho [2]

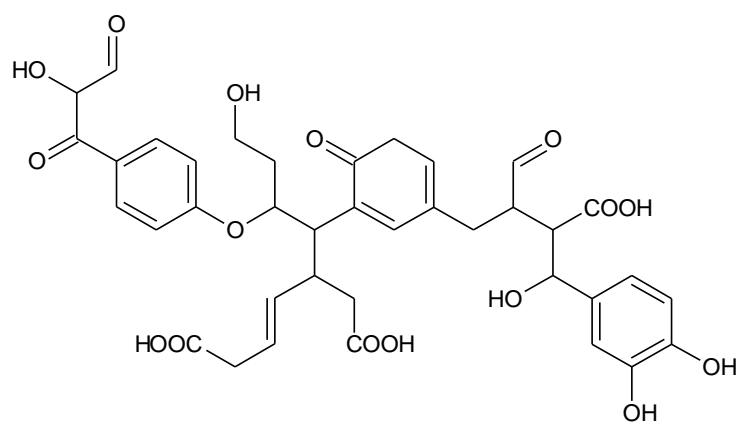
U huminových kyselin, jelikož se jedná o nejstudovanější frakci huminových látek, je v literatuře uvedeno hned několik hypotetických strukturních vzorců. Příklady těchto struktur jsou uvedeny na obrázcích 5–8, přičemž nejpoužívanější je dle Stevensona (obrázek 6). Základ těchto kyselin je tvořen velkým počtem aromatických jader, která jsou nejčastěji fenolického nebo chinoidního typu. Základ aromatických jader může být tvořen benzeny, furany, naftaleny, anthraceny, pyridiny, aj. Tato jádra jsou pak mezi sebou propojována aminokyselinami, aminocukry, peptidy či alifatickými řetězci. Ve struktuře huminových kyselin lze najít rozličné funkční skupiny, jako například fenolické, karboxylové, chinonové, hydrochinonové, laktonové, dále pak v menším množství například dusíkaté, sírové a fosforové funkční skupiny nebo dusíkaté a kyslíkaté atomy ve funkci můstků. Huminové kyseliny jsou díky této struktuře schopny vázat jak polární, tak i nepolární sloučeniny. [1] [2]



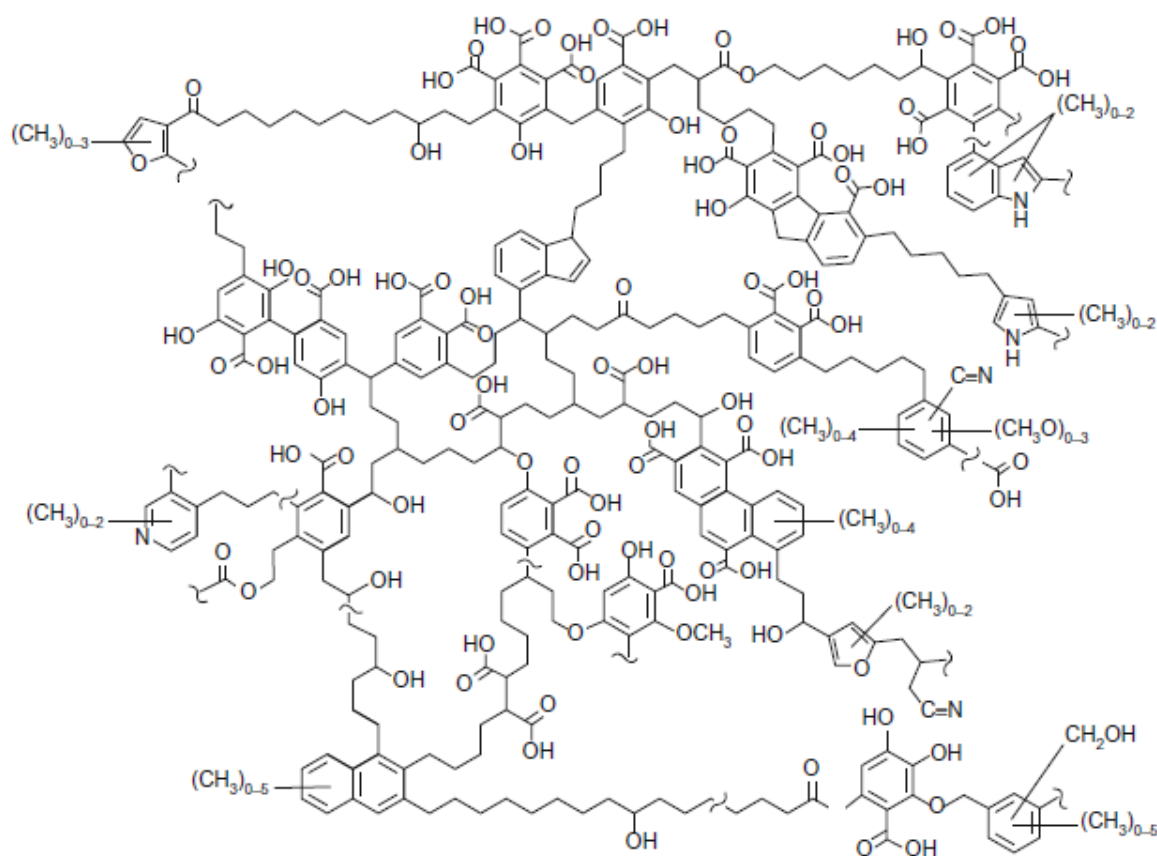
Obrázek 5: Struktura huminových kyselin podle Flaiga (1960) [1]



Obrázek 6: Struktura huminových kyselin podle Stevensona (1982) [1]



Obrázek 7: Struktura huminových kyselin podle Steina a spol. (1997) [1]



Obrázek 8: Struktura huminových kyselin podle Schultena a Schnitzera (1997) [6]

Jak již bylo naznačeno, od struktury huminových látek se odvíjí i jejich vlastnosti jako je tvorba povrchového náboje nebo kyselost roztoků. Při běžných hodnotách pH se huminové látky v roztoku vyskytují ve formě záporně nabitých makromolekul. Za tento náboj jsou zodpovědné především karboxylové a hydroxylové skupiny. Kyselost roztoků huminových látek je také dána přítomností těchto funkčních skupin. Relativně silně kyselé charakter, s disociační konstantou v řádech 10^{-2} – 10^{-5} , mají karboxylové skupiny, kdežto hydroxylové skupiny jsou pouze slabě kyselé a jejich disociační konstanta nabývá hodnot v řádech 10^{-9} – 10^{-11} . Vzhledem k tomu, že fulvinové kyseliny obsahují až dvakrát větší počet karboxylových skupin než huminové kyseliny, je tato frakce výrazně kyselejší. [3]

Míra kyselosti huminových látek není dána pouze počtem těchto funkčních skupin, ale také jejich rozmístěním a přítomností jiných funkčních skupin. Tato míra je například snižována přítomností polárních skupin v blízkosti skupin karboxylových. [3]

Další významnou vlastností huminových látek, které je věnována následující kapitola, je schopnost vytvářet nejrůznější komplexy, a to především s vícemocnými kationty. Nejreaktivnějšími skupinami huminových kyselin jsou skupiny karboxylové a aromatické, včetně fenolických. Velmi důležité z hlediska reaktivity jsou i chinoidní struktury, které přispívají k oxidačně-redukční aktivitě huminových kyselin. [1] [2] [3]

2.1.4 Vazebné možnosti huminových látek

Ze struktury huminových látek, jelikož je bohatá na různé funkční skupiny, můžeme usuzovat na několik typů vazebných interakcí. Mezi vazebné možnosti, které se při kontaktu s jinými látkami uplatňují, patří iontová, koordinační či kovalentní vazba, dále pak vodíkové můstky a hydrofobní interakce.

Iontová vazba

Tento typ vazebné interakce vzniká působením elektrostatických sil mezi funkčními skupinami huminových látek nesoucích náboj a ionty vyskytujícími se v daném prostředí (například v roztoku). Tato vazba se u huminových látek uplatňuje například při kontaktu s alkalickými kovy či amoniakem. [2]

Koordinační vazba

Nejvýznamnějším typem vazebných interakcí mezi huminovými látkami a ionty kovů představuje právě koordinační vazba. Vytváření tohoto typu vazeb je důležité především z hlediska imobilizace těžkých kovů v životním prostředí. Huminové látky jsou schopné vytvářet koordinační vazby díky přítomnosti karboxylových a fenolických skupin v jejich struktuře. Zastoupení těchto funkčních skupin je mimo jiné ovlivněno hodnotou pH. Ve slabě kyselém prostředí se na vzniku koordinační vazby podílejí převážně karboxylové skupiny. Při zvýšení pH nad hodnotu 7 se ke vzniku této vazby přidávají i skupiny fenolické. Stabilita vznikajících komplexů huminových látek s kovy roste s rostoucí hodnotou pH. [2]

Kovalentní vazba

V makromolekulární struktuře huminových kyselin může docházet i ke vzniku kovalentní vazby se znečišťující látkou. Příkladem této vazby je vazba s polycyklickými aromatickými látkami, konkrétně s anthracenem, kdy vzniká stabilní vazba, která je nemutagenní, a dokonce snižuje mutagenitu některých přítomných mutagenních látek. Možnost vzniku kovalentní vazby huminových látek s kontaminanty je předpokladem imobilizace těchto kontaminantů. [2]

Vodíkové můstky

Vznik vodíkových můstků je podmíněn přítomností funkčních skupin, které obsahují vodík, dusík či kyslík. Těmito funkčními skupinami nacházejícími se ve strukturách huminových látek jsou například amidové, laktamové či nitrilové skupiny. Vodíkové můstky se i přesto, že jsou považovány za slabé vazby, mohou významně podílet na vazebných schopnostech huminových látek. Přítomnost těchto vazeb byla prokázána při interakcích huminových látek s herbicidy, jež obsahují iminoskupiny. [2]

Hydrofobní interakce

Právě hydrofobní interakce jsou nejčastější předpokládanou vazebnou interakcí huminových látek s hydrofobními a alifatickými látkami. Uplatňují se při kontaktu nepolárních skupin (např. alkylových) nesených molekulami nacházejícími se ve vodném prostředí. Vychází z přesunu π -elektronů nebo z působení van der Waalsových sil. Například skutečnost, že insekticid parathion ztrácí v blízkosti huminových látek část toxických účinků je vysvětlována přítomností tohoto typu interakcí. Vysvětluje se jimi i imobilizace herbicidů atrazinu a hydroxyatrazinu. [2]

2.1.5 Využití huminových látek

V současné době se mezi čtyři hlavní oblasti využití huminových látek řadí zemědělství, průmysl, ochrana životního prostředí a medicína.

Zemědělství

Huminové látky hrají v zemědělství důležitou roli, a to díky jejich pozitivnímu vlivu na strukturu půdy, její kvalitu a úrodnost. Důležitou schopností huminových látek využívanou v této oblasti aplikace je napomáhání transportu stopových prvků z půdy na rostlinu, dále zpomalují vypařování vody z půdy, zvyšují klíčivost semen a stimulují vývoj mikroflóry v půdě. Používají se jako přísady do hnojiv, a to ve formě různých solí, jako například humát vápenatý, sodný či amonný. Další možnou aplikací huminových látek v zemědělství je příprava krmiv pro hospodářská zvířata, kde se uplatňuje jejich účinek podporující růst. [7]

Průmysl

V průmyslu našly huminové látky využití v různých odvětvích, ve stavebnictví jako aditiva pro řízení vytvrzování betonu, v keramickém průmyslu jako přísada pro zlepšení mechanické pevnosti keramiky, dále pak v dřevozpracujícím průmyslu, kde se používají pro přípravu „přírodního indiga“ k obarvení dřeva, při výrobě plastů slouží jako barvivo nylonu 6 či PVC plastů nebo jako změkčovací přísada pro PVC. Jako barvivo se tyto látky používají i v kožedělném průmyslu. V průmyslu papírenském jsou uplatňovány například při výrobě elektricky vodivých papírů, při výrobě papíru s vysokou pevností v tahu nebo při recyklaci papíru. Dále lze tyto látky využít jako iontoměniče, zdroje syntetických uhlovodíků a topných olejů nebo třeba ke zvýšení efektivity extrakce uranu z jeho rud. [7]

Ochrana životního prostředí

Díky své struktuře mají huminové látky schopnost vázat na sebe různé látky, a proto jsou důležité v oblasti ochrany životního prostředí. Jejich hlavním úkolem je odstranit těžké kovy, organické látky a jiné polutanty z půd či vod. Iontově výměnné materiály na bázi humátu vápenatého jsou vhodné pro odstranění těžkých kovů jako železo, nikl, rtuť, měď z vod a radioaktivních prvků z odpadních vod jaderných elektráren. Jejich selektivní vazebné schopnosti jsou využívány i při likvidaci chemických bojových látek. V oblasti čištění odpadních vod se huminové látky používají k odstraňování olejů, barviv, pesticidů, fenolů, farmaceutických kontaminantů na bázi estrogenu a jiných znečišťujících látek. [7]

Medicína

Hlavním důvodem využívání huminových látek ve farmacii a kosmetologii jsou jejich antibakteriální, protivirové a protizánětlivé účinky. Především fulvinové kyseliny mají schopnost chránit organismus před rakovinou, a těžké virové onemocnění dýchacích cest u dětí lze také vyléčit pomocí fulvinových kyselin ve formě doplňku stravy. Huminové kyseliny se v této oblasti uplatňují díky schopnosti tvořit cheláty s kovy, a proto je lze využít k odstraňování těžkých kovů z živých organismů. Nicméně bylo prokázáno, že huminové kyseliny jsou pro mnoho savčích buněk toxické. [7]

2.1.6 Standardy huminových kyselin

Tato kapitola se věnuje stručnému popisu huminových kyselin použitých v experimentální části. Vzorky standardů huminových kyselin byly zakoupeny u americké společnosti International Humic Substance Society (IHSS).

Podle definice standardní vzorek IHSS musí splňovat následující podmínky: [8]

- vzorek musí pocházet z místa speciálně určeného společností IHSS,
- vzorek musí být připraven podle specifického postupu určeného IHSS,
- postupy zapojené v předešlých podmínkách musí být prováděny pod dohledem IHSS,
- vzorek musí být označen jako standard společností IHSS.

Jednotlivé použité standardní vzorky se liší podle místa izolace, výchozího materiálu. Zdroje použitých standardů jsou následující:

Leonardite

Výchozím materiálem pro izolaci standardu Leonardite je přírodně zoxidovaný lignit (hnědé uhlí nízké kvality). Tento materiál se získává z povrchového dolu Gascoyne nacházejícího se poblíž Bowman County v Severní Dakotě (USA). [8]

Elliott Soil

Elliott Soil je standardní vzorek izolován z úrodné prérijní půdy států Indiana, Illinois a Iowa (USA). Skládá se z velmi hlubokých, poněkud špatně odvodněných půd v morénách a jejich sedimentech. Ty jsou tvořeny 20 palci prachovitěho materiálu a naplavené jílovité hlíny ledovcových sedimentů. [8]

Suwannee River II

Standard Suwannee River II, jak už název napovídá, pochází z řeky Suwannee, která se nachází v jižní Georgii (USA) a teče na jihozápad do Mexického zálivu. Tato řeka je označována jako černá řeka nebo řeka s černou vodou (tzn. řeka protékající skrz zalesněné bažiny či mokřady). Předpokládá se, že většina rozpuštěného organického uhlíku je poskytována rozkládající se vegetací v mokřadu s názvem Okefenokee Swamp. [8]

Pahokee Peat

Tento vzorek se extrahuje z rašelinové půdy národního parku Everglades, který se nachází na území státu Florida (USA). Skládá se z velmi špatně odvodněných půd, které jsou 36 až 51 palců nad vápencovým podložím. Pahokee půda je tvořena v organických ložiscích sladkovodních bažin. [8]

Společnost IHSS používá k izolaci standardů huminových kyselin dvě metody podle toho, jaké povahy je výchozí materiál.

Je-li výchozím materiálem přírodní voda (týká se standardu Suwannee River II), je k izolaci huminových kyselin využívána metoda adsorpce na XAD-8 pryskyřici. Při této metodě jsou rozpuštěné organické hmoty frakcionovány na hydrofobní a hydrofilní podíl prostřednictvím přednostní adsorpce hydrofobní frakce na XAD-8 pryskyřici. Poté se alkalickou extrakcí vodným roztokem hydroxidu sodného eluuje hydrofobní frakce z pryskyřice a následně jsou huminové kyseliny vysráženy při nízkém pH. Ve výsledku tedy IHSS standardy huminových kyselin z přírodních vod obsahují pouze hydrofobní organické kyseliny. [9]

Izolace huminových kyselin z pevné fáze výchozích materiálů, jako jsou půdy (standard Elliott Soil), rašeliny (standard Pahokee Peat) a leonardit (Leonardite) je prováděna alkalickou extrakcí vodným roztokem hydroxidu sodného a následným srážením huminové kyseliny při nízkém pH. V tomto postupu jsou huminové kyseliny izolovány přímo alkalickou extrakcí, bez odstranění hydrofilních kyselin, pak tedy tyto standardy obsahují jak hydrofobní, tak hydrofilní kyseliny. [9]

Jednotlivé standardy se od sebe liší, jak už bylo zmíněno, výchozím materiálem, z něhož jsou izolovány, tím pádem bude mezi jednotlivými huminovými kyselinami rozdíl ve struktuře, a tudíž i v interakcích s jednotlivými organickými barvivy použitými v difuzních experimentech.

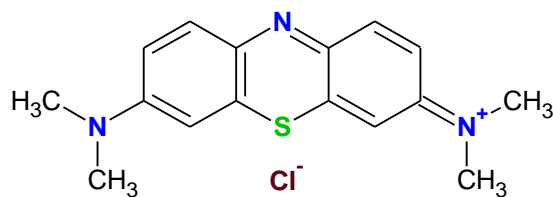
2.2 Organická barviva

Následující kapitoly se věnují dvěma vybraným barvivům, která jsou využívány v experimentální části této diplomové práce jako tzv. difuzní sondy, tedy látky, jejichž difuze je studována.

2.2.1 Methylenová modř

Methylenová modř (obrázek 9), kterou lze najít také pod označením Basic Blue 9 nebo C.I. 52015, je organická látka, jež se řadí mezi heterocyklické aromatické sloučeniny. Její systematický název zní 3,7-bis(dimethylamino)-fenothiazin-5-ium-chlorid. [10]

Toto barvivo v roztoku vytváří kladný náboj, z čehož se usuzuje na elektrostatické interakce se záporně nabitými skupinami huminových kyselin. Mimo jiné obsahuje i 4 akceptory vodíkových vazeb a disponuje aromatickým skeletem schopným vytvářet π - π interakce. [10]



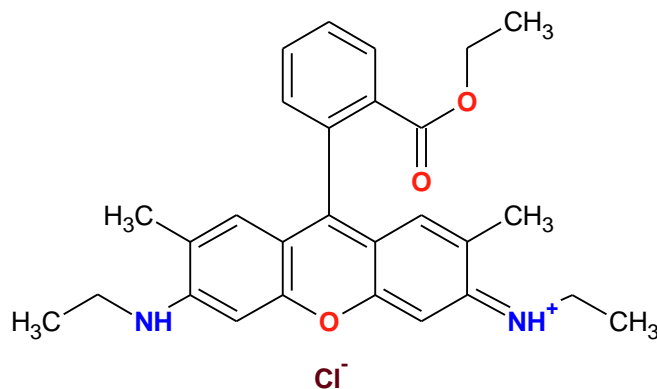
Obrázek 9: Struktura methylenové modři [10]

Methylenová modř má široké uplatnění, mezi nimiž se nachází barvení papíru, dřeva, dočasné barvení vlasů, barvení bavlny, vlny či hedvábí, aj. I přesto, že nepatří mezi vysoce nebezpečné látky, může mít řadu nepříznivých účinků na organismus, jako jsou zrychlení srdečního tepu, zvracení, šok, cyanóza, žloutenka, ochrnutí a nekróza tkáně. [11] [12]

2.2.2 Rhodamin 6G

Jiné označení pro rhodamin 6G (obrázek 10) je například Basic Red 1 či C.I. 45160. Toto barvivo se také se řadí mezi heterocyklické aromatické sloučeniny a jeho systematický název je ethyl 2-[(3Z)-6-(ethylamino)-3-(ethylimino)-2,7-dimethyl-3H-xanthen-9-yl]benzoát hydrochlorid. [13]

Vykazuje fluorescenční vlastnosti a v roztoku vytváří kladně nabitou molekulu. Díky vzniku kladného náboje se předpokládají elektrostatické interakce se záporně nabitými funkčními skupinami huminových kyselin. Dále pak tato molekula obsahuje 5 akceptorů a 2 donory vodíkových vazeb a stejně jako v případě methylenové modři se předpokládají π - π interakce díky přítomnosti aromatických jader. [13]



Obrázek 10: Struktura rhodaminu 6G [13]

Rhodamin 6G se používá k barvení vlny, bavlny, hedvábí a papíru nebo například jako kalibrační roztok v řadě fluorescenčních technik (konkrétně třeba u fluorescenční korelační spektroskopie). Rhodamin způsobuje podráždění pokožky, očí a dýchacích cest. Bylo také prokázáno, že rhodamin může vykazovat toxicitu pro reprodukci a vývoj člověka. [11] [14]

2.3 Gely

Jako gely jsou označovány disperzní systémy tvořené prostorovou makromolekulární sítí. Tato prostorová síť je dána spojenými disperzními částicemi, které prostupují celým disperzním prostředím. Jedná se o disperze pevných látek v kapalinách. Spojité je zde jak disperzní prostředí, tak disperzní podíl, přičemž se disperzní částice v disperzním prostředí nemohou volně pohybovat. Síly působící na částice v této soustavě mohou být dvojího charakteru, a to chemického (kovalentní vazba) nebo fyzikálního (mezimolekulové síly). [15] [16] [17]

2.3.1 Vznik gelů

Gely vznikají z lineárního polymeru nebo jeho roztoku procesem známým jako gelace. Disperzní částice, z nichž síť vzniká, bývají nejčastěji koloidních rozměrů, existují však případy tvorby gelů v mikroheterogenních systémech (např. u silikátů). Průběh gelace může být ovlivňován různými podmínkami. U gelace roztoků vysokomolekulárních látek hraje roli teplota, koncentrace či pH, u gelace lyofobních solů pak navíc i rozměry a tvar částic. [15] [16] [17]

Snížení teploty u gelace vysokomolekulárních látek zpravidla podporuje tvorbu gelu. Zvýšením teploty totiž obvykle vzrůstá intenzita tepelného pohybu jednotlivých segmentů a v důsledku toho dochází k poklesu počtu i doby existence vazeb mezi makromolekulami. Naopak u gelace lyofobních solů vzrůstem teploty podpoříme rychlost gelace, ovšem při příliš vysokých teplotách může gel opět přecházet v sol. [15]

Co se týče vlivu koncentrace na gelaci roztoků vysokomolekulárních látek, tak se zvyšující se koncentrací dochází k častějším srážkám makromolekul a tím i k vzrůstu počtu vazeb mezi nimi. Má-li makromolekula protáhlý tvar, může gel vznikat i ve zředěných roztocích. U lyofobních solů musí koncentrace disperzního podílu dosáhnout určité minimální hodnoty, aby k tvorbě gelu vůbec docházelo, jelikož pod touto hodnotou by probíhala pouze koagulace. [15]

Vliv pH roztoků je důležitý u gelace amfoterních vysokomolekulárních elektrolytů, jako jsou například bílkoviny. Gelace těchto elektrolytů probíhá nejlépe při hodnotě pH odpovídající jejich izoelektrickému bodu. [15]

Vzniku gelu z lyofobních solů napomáhá zmenšení rozměrů částic disperzního podílu a velký význam má i tvar těchto částic, snadněji totiž vznikají gely z částic anizometrických. Míchání nebo jiné mechanické působení obvykle tvorbě gelu zabraňuje. [15]

2.3.2 Dělení gelů

Gely lze dělit na základě různých kritérií, jako zda obsahují rozpouštědlo, pokud ano, tak jakého je charakteru, dále třeba dle chemické povahy disperzních částic. Hlavním kritériem je však chování gelu ve vysušeném stavu při styku s kapalinami.

Podle toho, zda v gelu je nebo není přítomno rozpouštědlo, je dělíme na lyogely a xerogely. Pokud původní rosolovitý gel označovaný jako lyogel zbavíme disperzního prostředí (vysušíme ho), dostaneme xerogel, což je systém obsahující pouze disperzní podíl. Podle povahy disperzního prostředí můžeme lyogely rozlišit na hydrogely a organogely. V hydrogelech tvoří disperzní prostředí voda, kdežto v organogelech organická kapalina. Zvláštním případem je pak tzv. izogel, kde je disperzní prostředí tvořeno monomerem disperzního podílu. Co se týče chemického složení disperzního podílu, tak lze gely dělit na anorganické a organické. [15] [16]

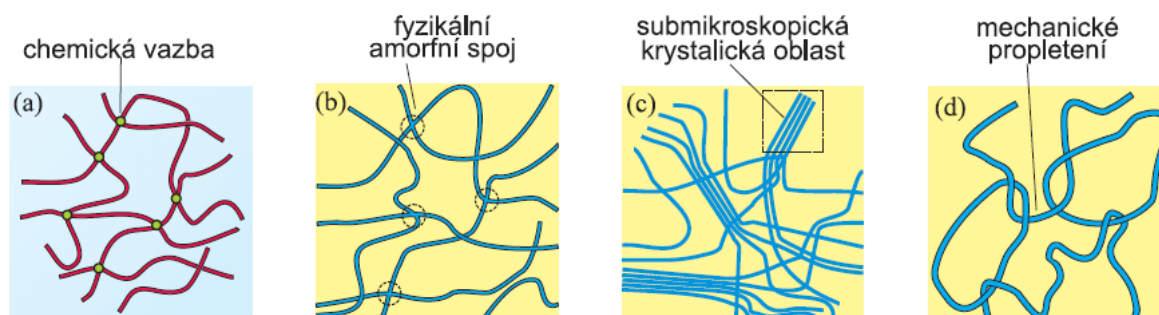
Nejdůležitějším kritériem pro rozlišení gelů je chování příslušného xerogelu při styku s kapalinami. Podle tohoto hlediska můžeme gely dělit na dvě skupiny, a to na reverzibilní a ireverzibilní. Reverzibilní gely jsou schopné přijímat disperzní prostředí a přecházet tak opět do původního stavu, zatímco ireverzibilní gely sorbují určité množství kapaliny, ale původní lyogel tím nevzniká. [15]

Reverzibilní gely

Prostorová struktura reverzibilního gelu je tvořena sítí makromolekulárních řetězců spojených v místech, které se nazývají uzly, uzlové body nebo uzlové oblasti. Tato skupina gelů může vznikat buď z roztoků vysokomolekulárních látek gelací, nebo z xerogelů botnáním. Podle toho, zda jsou řetězce sítě propojeny chemickými vazbami nebo působením fyzikálních sil se reverzibilní gely dají dělit na chemicky síťované nebo fyzikálně síťované. [15] [16]

Podstatou chemicky síťovaných gelů (obrázek 11a) je kovalentní provázání řetězců makromolekul, které vzniká polymerací monomerů nebo zesíťováním již hotových lineárních polymerů za přítomnosti vhodného síťovacího činidla. Struktura těchto gelů je velmi pevná. [15] [16]

Ve fyzikálně síťovaných gelech je spojování polymerních řetězců do uzlů nebo uzlových oblastí dáno působením slabých fyzikálních sil. Mezi tyto mezimolekulové síly se řadí van der Waalsovy síly, polární síly nebo vodíkové vazby. Rozlišujeme tři typy struktury fyzikálně síťovaných gelů. První typ těchto gelů je tvořen amorfními spoji, kde je asociace makromolekulárních řetězců nepravidelná, náhodná (obrázek 11b). Druhým typem jsou gely, ve kterých se střídají oblasti s krystalickou strukturou (tzv. oblasti krystality) s amorfními oblastmi (obrázek 11c). Krystalická oblast je zde tvořena krátkými rovnoběžně uloženými částmi lineárních makromolekul. Třetí typ těchto gelů je tvořen tzv. geometrickým síťováním, tj. mechanickým propletením řetězců v důsledku tepelného pohybu (obrázek 11d). Propletení není projevem přitažlivých fyzikálních sil, ale důsledkem toho, že si řetězce navzájem brání v nezávislém pohybu. Ovšem nejsou-li tyto gely síťovány také fyzikálními silami nebo kovalentně, bývá propletení řetězců pouze krátkodobé (řetězce se mohou opět rozplést a vzdálit). [15] [16] [17]

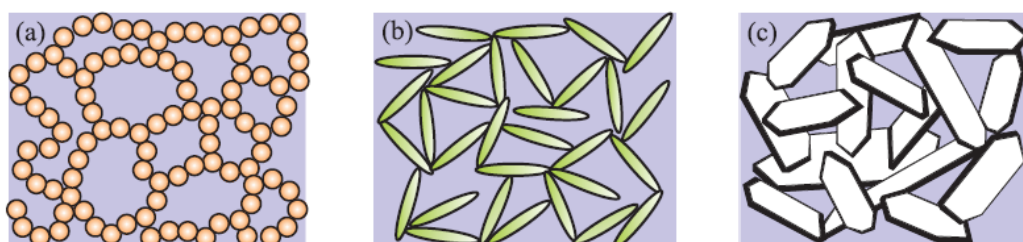


Obrázek 11: Reverzibilní gely se strukturou tvořenou (a) chemickými vazbami, (b) fyzikálními amorfními spoji, (c) fyzikálními spoji s krystalickými oblastmi a (d) geometrickým síťováním [16]

Ireverzibilní gely

Ve vysušeném stavu jsou ireverzibilní gely porézní, mají přibližně stejný objem jako původní lyogely a mohou adsorbovat značné množství kapaliny (např. silikagel). Tyto gely vznikají gelací lyofobních solí, kdy při částečném narušení ochranné vrstvy (elektrická dvojvrstva, solvatační obal) dochází ke ztrátě stability na některých místech povrchu částice, a právě v těchto místech dochází k propojování částic za vzniku prostorové sítě, jež ve svých mezerách uzavírá disperzní prostředí. K narušení stabilizujícího faktoru dochází přidávkem elektrolytu v koncentraci nižší než koagulační práh. [15] [16]

Obrázek 12 ukazuje různé tvary disperzních částic, ze kterých mohou být ireverzibilní gely tvořeny. Snadněji vznikají gely s anizometrickými částicemi, u nichž ke spojování dochází na jejich hranách a hrotech, jelikož právě zde jsou nejméně vyvinuty stabilizující faktory. Kromě toho postačuje pro vznik síťovité struktury menší koncentrace disperzního podílu tvořeného např. jehlicovitými (obrázek 12b) nebo destičkovitými částicemi (obrázek 12c), než u solí se sférickými částicemi (obrázek 12a). [16]



Obrázek 12: Ireverzibilní gel s (a) izometrickými, (b) jehlicovitými či (c) destičkovitými částicemi [16]

2.3.3 Vlastnosti gelů

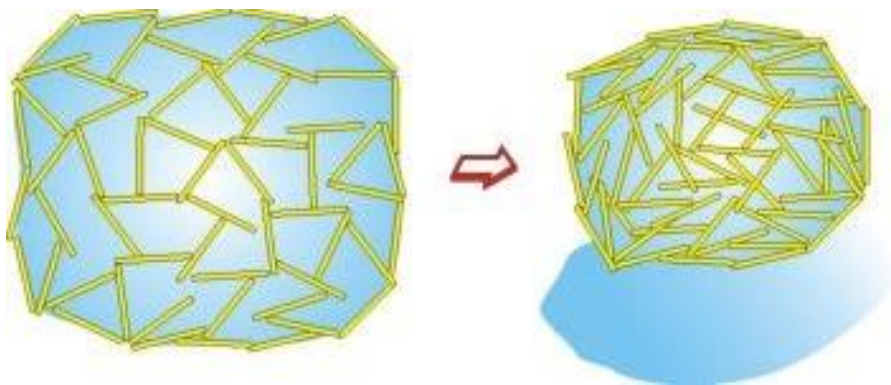
Gely mají mechanické vlastnosti charakteristické pro tuhé látky, i když kapalně disperzní prostředí mnohdy výrazně převažuje nad disperzními částicemi. Jsou schopny odolávat tečnému napětí až do určité kritické hodnoty. Pod touto hodnotou, která je závislá na koncentraci uzlů a na jejich pevnosti, se gel chová jako elastické tuhé těleso. Čím je počet vazeb mezi řetězci polymeru větší, tím menší je možnost změny tvaru makromolekuly a tím rigidnější prostorová síť vzniká. [15] [16]

Některé gely vykazují tixotropní vlastnosti. Velmi slabé fyzikální síly poutající disperzní částice, je možno mechanickým namáháním porušit a gel tak převést na sol. Pokud ztekucený sol necháme v klidu stát, vazby se pomalu obnoví a dojde k opětovné gelaci. Tixotropii nejvíce gely polymerů obsahující různé pevné uzly. Při namáhání takových systémů dochází k jejich rozpadu na velké celky, které již nevytvoří strukturu s původními vlastnostmi. [15] [16]

Většina fyzikálně síťovaných gelů je termoreverzibilní, tzn., že ohřátím lze gely převést na roztok a ochlazením roztoku opět na gel. Přechod roztoku na gel (a opačně) nenastává při jedné konkrétní hodnotě teploty. Teplota, při níž koloidní roztok tuhne v gel, se nazývá teplota tuhnutí (nebo taky bod gelace) a je nižší než teplota ztekucení, což je teplota, při níž naopak gel přechází na sol. Hysterezní rozdíl těchto teplot se pohybuje v rozmezí 10 až 20 °C a lze ho vysvětlit tím, že při ochlazování solu vznikají nejprve málo pevné vazby, které se postupně upevňují a aby tyto pevnější vazby byly při opačném procesu zrušeny, je zapotřebí zahřát gel na vyšší teplotu. [15] [16]

Dalšími vlastnostmi gelů jsou elektrická vodivost a difuzivita látek. Malé molekuly a ionty rozpuštěných látek se pohybují mezi sítí tvořenou disperzním podílem téměř stejně rychle jako v solu. Molekuly disperzního prostředí si v gelu zřejmě zachovávají tepelný pohyb typický pro kapalnou fázi, proto zůstává elektrická vodivost gelu téměř stejně vysoká a difuzivita nízkomolekulárních látek v gelu je jen o něco málo nižší než v odpovídajícím solu. Ovšem u větších molekul je pohyblivost v gelu snížena. V gelových soustavách je výhodné studovat difuzi a pohyb v elektrickém poli, neboť jsou zde vlivem existence prostorové sítě rušivé vlivy mechanického míchávání nebo promíchávání tepelnými konvekcemi omezeny na minimum. [15] [16] [17]

U čerstvých gelů, reverzibilních i ireverzibilních, lze pozorovat synerezi neboli stárnutí gelu. Při tomto samovolném ději dochází k růstu počtu styčných bodů, přičemž se síťovitá struktura gelu smršťuje a část kapaliny disperzního prostředí je vytlačována z gelu ven. Synereze je podporována zvýšením teploty a u mnohých gelů i přidavkem elektrolytů. [15] [16]



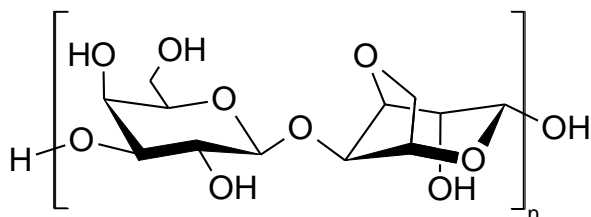
Obrázek 13: Synereze gelu [15]

2.3.4 Využití gelů

Velký význam mají gely a proces gelace v lékařství, v biologii a mnoha průmyslových odvětvích. Například srážlivost krve je způsobena zvýšením její viskozity v důsledku gelace, gely tvoří značnou část organismů živočichů a rostlin. Gelace vysokomolekulárních látek jakožto důležitý technický proces se využívá třeba při výrobě vláken, aplikaci lepidel, zpracování kůží, dále pak ve farmaceutickém průmyslu k přípravě gelových kapslí, ve sklářském a keramickém průmyslu při přípravě specializovaných materiálů jako jsou vysoce kvalitní skla a keramika pro kloubní náhrady, aj. Na tvorbě gelů je založena i řada pochodů v potravinářství a pekařském průmyslu. [15] [16]

2.3.5 Agarosa

Při studiu transportních procesů v této práci, se jako výchozí látka pro přípravu hydrogelů používá agarosa, jež se řadí mezi polysacharidy. Jedná se o lineární polymer, jehož primární struktura sestává z opakujících se jednotek agarobiosy (viz obrázek 14), což je disacharid složený z β -D-galaktopyranosy a 3,6-anhydro- α -L-galaktopyranosy, které jsou mezi sebou propojeny α -(1 \rightarrow 3) a β -(1 \rightarrow 4) glykosidickými vazbami. Některé D-galaktopyranosové a L-galaktopyranosové podjednotky základního řetězce agarosy mohou v malém množství obsahovat navázané methylethery, sulfátové skupiny či pyruvátové zbytky. Molekulová hmotnost agarosy je přibližně 120 000 a každý její řetězec obsahuje asi 392 agarobiosových jednotek. [18]

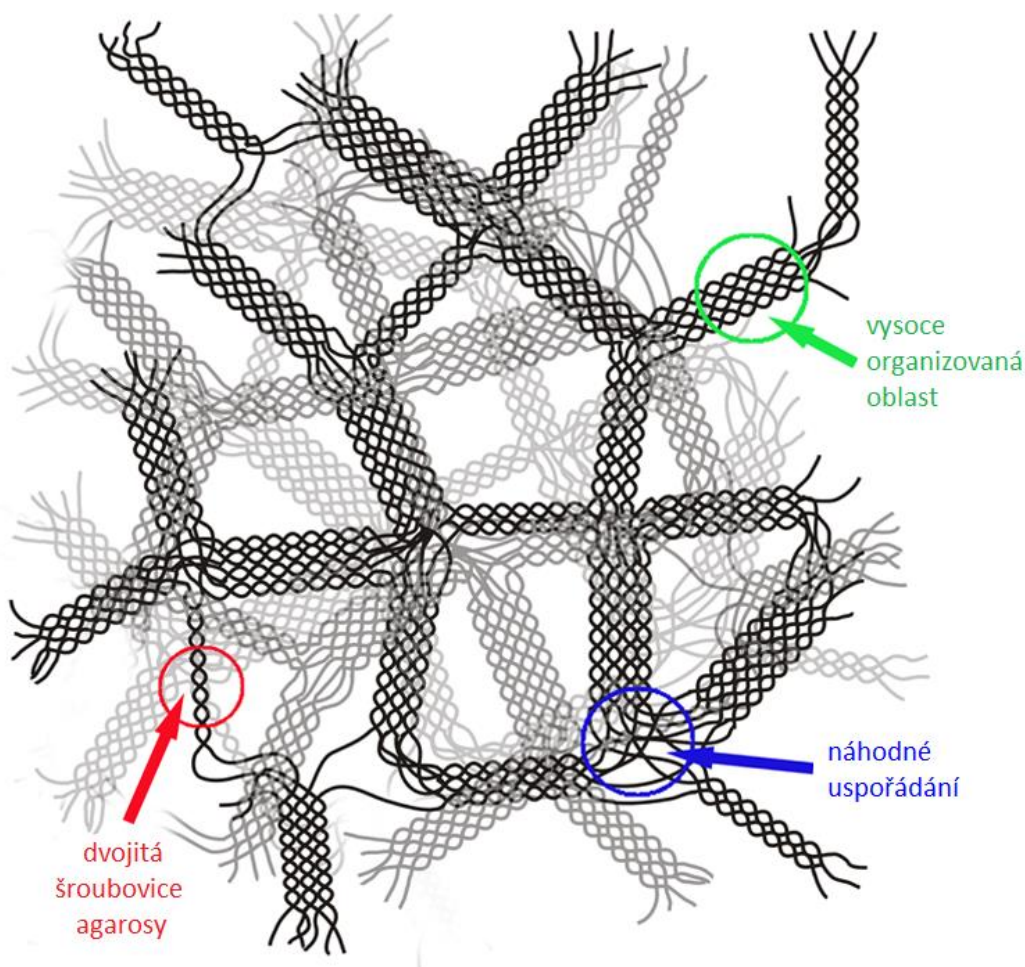


Obrázek 14: Strukturní vzorec agarobiosy [19]

Společně s agaropektinem tvoří agarosa základní složky směsi známé jako agar. Agar je součástí buněčných stěn a mezibuněčné hmoty červených mořských řas (*Rhodophyta*, neboli ruduchy) rodu *Gelidium*, *Gracilaria*, *Acanthopeltis*, *Ceramium*, *Pterocladia* nebo *Campylaephora*. Extrakce agaru z červené řasy spočívá ve vaření řasy ve vodě a následných izolačních postupech zahrnujících filtraci (k odstranění částic), gelaci, proces zmrazení a rozmrazení (pro odstranění ve vodě rozpustných nečistot) a srážení ethanolem. Většina izolačních postupů agarosy z agaru je založena na rozdílné rozpustnosti a/nebo chemické reaktivitě spojené s nabitým agaropektinem. Příkladem izolace agarosy z agaru je srážení agaropektinu s kvarterní amoniovou solí nebo srážení agarosy s polyethylenglykolem. [18] [20] [21]

Gelace

Agarosové gely se řadí mezi fyzikální gely a jejich mechanismus gelace je zcela řízen vodíkovou vazbou. Příprava těchto gelů spočívá v zahřívání vodné suspenze agarosy a následném ochlazení rozpuštěného solu. Za vysokých teplot, tedy v horkém roztoku, řetězce agarosy existují v tuhém a neuspořádaném stavu a při ochlazování (na cca 40 °C) dochází k vytváření jednoduchých či dvojitých helikálních struktur, které následně agregují a vytvářejí vláknitou prostorovou síť (obrázek 15). Jednotlivé helikální struktury jsou mezi sebou stabilizovány právě vodíkovými vazbami. Gelové sítě se mohou tvořit už při nízké koncentraci agarosy, a to při 0,1 hm. %. [18] [20] [22]



Obrázek 15: Prostorová síť tvořená agarosou [19], upraveno

Vlastnosti

Fyzikální a chemické vlastnosti každého agarosového preparátu závisí na zdroji mořských řas, ze kterých je izolován. Hlavní výhoda agarosy spočívá v tom, že se jedná v podstatě o chemicky neutrální polymerní řetězec, může ovšem obsahovat malé množství nabitých substituentů jmenovaných výše. Další výhodou je fakt, že agarosa je jediným známým termoreverzibilním, iontově nezávislým gelatačním činidlem. [18] [21]

Agarosové gely vykazují silnou elasticitu a zákal. Z důvodů jevu známého jako hystereze nejsou teploty gelace a teploty ztekucení u všech agarosových preparátů totožné, mění se v závislosti na typu agarosu, konkrétněji na obsahu methoxy skupin. Agarosa původem z *Gelidium* má méně methoxy skupin a gel se tvoří v rozmezí teplot 34–38 °C, zatímco agarosa izolovaná z *Gracilaria*, vzhledem k vyššímu zastoupení methoxy substituentů, vytváří gelovitou strukturu při ochlazení na teplotu 40–52 °C. [20] [21] [22]

Využití

Agarosový gel slouží jako vynikající médium pro separaci polyelektrolytů, zejména proteinů, nukleových kyselin a jejich derivátů. Elektroforéza na agarosovém gelu se v praxi běžně používá k identifikaci proteinů včetně enzymů v krevním séru, plazmě a jiných biologických tekutinách. [21]

V imunologii se agarosa využívá jako prostředek pro detekci a studium antigenních materiálů. Vzhledem k velikosti pórů gelové matrice, relativní chemické neutralitě a vysoké čistotě je agarosa ideálním médiem pro imunologické reakce. Řada imunologických technik je založena na vizualizaci interakce antigen-protilátka, kdy nerozpustný komplex antigen-protilátka vytváří v místě setkání zákal. [21]

Agarosa se používá jako náplň chromatografických kolon pro separaci na molekulární úrovni. Slouží jako médium pro separaci molekul větších než 250 kDa. Využívá se zde jednotné velikosti pórů dané koncentrací agarosu. Separované molekuly mají minimální nespecifickou vazbu na médium a zachovává se jejich biologická aktivita. V afinitní chromatografii je na agarosový gel fyzikálně či chemicky navázán například antigen, protilátka, enzymu, koenzym nebo substrát. Tyto ligandy poté specificky interagují s určitými molekulami a tím je selektivně odstraní z komplexních směsí, které je obsahují. [21]

V literatuře existují zprávy týkající se využití agarosového gelu jako biokonvertoru, kde po navázání enzymu přeměňují jednu chemickou látku na jinou. Jednou z konkrétních aplikací může být například zapouzdření insulinu produkujících Langerhansových ostrůvků pro transplantaci nebo zapouzdření aktivního uhlí a iontoměničových pryskyřic pro hemoperfuzi při detoxikaci jednotlivců v případě předávkování drogami. [21]

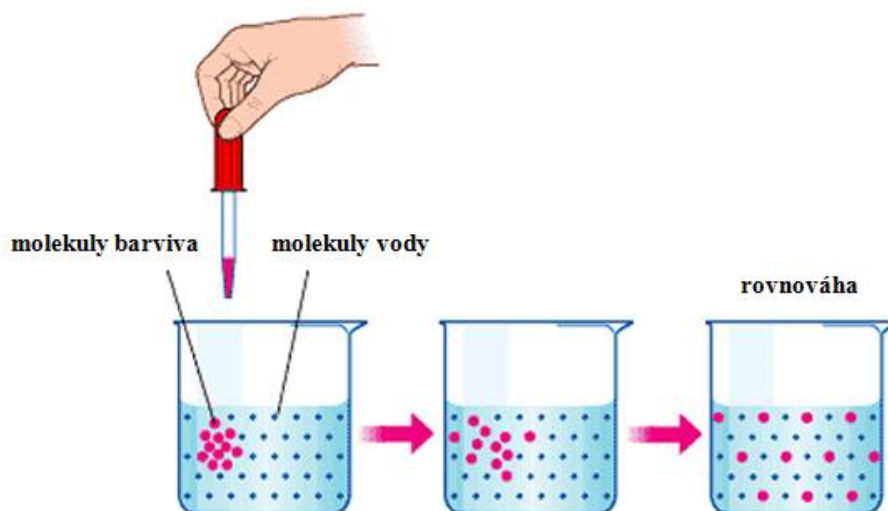
Z dalších aplikací agarosu stojí za zmínku to, že se používá v mikrobiologii jako médium pro kultivaci mikroorganismů a buněk. Díky tomu, že je agarosa biologicky inertní a biokompatibilní, hydrogel je stabilní, poskytuje mechanickou oporu a podporuje růst buněk lze agarosový gel využít například i v tkáňovém inženýrství jako scaffold. [23]

Díky svým optickým a mechanickým vlastnostem a poměrně jednoduché přípravě je agarosový hydrogel vhodné médium ke studiu reaktivity řady látek. Jelikož se jedná o prakticky nenabitý polysacharid, lze usuzovat, že afinita k interakcím mezi agarosovým gelem a studovanými organickými barvivy bude nízká a nebude tak docházet k negativnímu ovlivňování difuzních experimentů.

2.4 Difuze

Difuze je jedním z tzv. transportních jevů, ke kterým dochází u nerovnovážných soustav. Mezi tyto jevy zařazujeme sdílení hybnosti, energie a hmoty. Difuze je projevem tepelného pohybu částic, tzv. Brownova pohybu, při kterém jednotlivé částice putují z jedné části systému do druhé. Částice vykonávají neuspořádaný nahodilý pohyb, jehož směr i rychlost se mění vlivem jejich vzájemných srážek a srážek s molekulami disperzního prostředí. Jelikož počet těchto srážek z různých stran nebývá stejný, tak se částice pohybuje různými směry po velmi složité trajektorii. Z makroskopického hlediska je difuze děj, při kterém je pohyb částic vyvolán gradientem chemického potenciálu a jednotlivé částice tak putují z oblasti s vyšším chemickým potenciálem do oblasti o nižším chemickém potenciálu těchto částic. [15] [24] [25]

Nejčastějším typem je difuze způsobená koncentračním gradientem. Obrázek 16 uvádí příklad, kdy máme nádobu s rozpouštědlem (vodou) a do ní kápneme barvivo. Vlivem rozdílné koncentrace barviva v různých částech systému dochází k jeho postupnému pronikání do celého objemu rozpouštědla a po dostatečně dlouhé době se intenzita zbarvení v celé nádobě vyrovná a vymizí tak rozdíly v koncentracích. [24]



Obrázek 16: Průběh difuze [26], upraveno

Difuze nemusí být způsobena pouze vlivem gradientu koncentrace částic, ale také následkem gradientu tlaku (tlaková difuze), gradientu teploty (termodifuze) či vlivem nestejných vnějších sil, které působí na molekuly rozpuštěné látky a rozpouštědla (např. elektrické pole). [24]

2.4.1 Fickovy zákony

Rychlost difuze ve stacionárním prostředí se vyjadřuje difuzním tokem J_i , který je definován jako látkové množství difundující složky n_i , jež projde jednotkovou plochou A kolmou ke směru difuze za jednotku času t . Difuzní tok je roven součinu střední rychlosti toku částic u_i , a jejich koncentrace c_i : [15] [16]

$$J_i = \frac{dn_i}{A \cdot dt} = u_i \cdot c_i. \quad (1)$$

I. Fickův zákon

Vztah označovaný jako I. Fickův zákon popisuje pohyb molekul v daném místě a daném čase. Difuzní tok je při jednorozměrné stacionární difuzi úměrný koncentračnímu gradientu následovně: [15]

$$J_i = -D_i \frac{\partial c_i}{\partial x}, \quad (2)$$

kde J_i je hustota difuzního toku látky i , D_i je difuzní koeficient a zlomek $\frac{\partial c_i}{\partial x}$ představuje koncentrační gradient látky i kolmý k difuznímu rozhraní. Symbol parciální derivace znamená, že dané veličiny jsou také funkcí teploty, tlaku, popř. času. Při stacionární difuzi je koncentrační gradient konstantní, tedy s časem neměnný. Difuzní tok nastává ve směru klesající koncentrace, proto v této rovnici figuruje záporné znaménko. [15] [16] [24]

I. Fickův zákon lze použít k přímé interpretaci dějů, při kterých se rozdělení koncentrací s časem nemění (ustálená difuze). V případě, že se rozdělení koncentrace mění (neustálená difuze) udává první Fickův zákon okamžitou rychlost difuze v daném místě s příslušným koncentračním gradientem. [24]

K výpočtu celkového množství látky m_t prodifundované jednotkovou plochou A existuje vztah: [24]

$$m_t = \int_0^t D_i \left(\frac{\partial c_i}{\partial x} \right) dt. \quad (3)$$

II. Fickův zákon:

Při nestacionární difuzi dochází ke změnám koncentračního gradientu s časem a difuzní tok se mění s polohou, $\frac{\partial J_i}{\partial x} = -\frac{\partial c_i}{\partial t}$. Rozdělení koncentrace v závislosti na vzdálenosti a čase při neustálené difuzi je popsáno II. Fickovým zákonem: [15] [16] [24]

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_i \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}. \quad (4)$$

II. Fickův zákon představuje diferenciální rovnici druhého řádu vzhledem k prostorové souřadnici a prvního řádu vzhledem k času. Jejím řešením (integrací) získáme koncentraci jako funkci polohy a času, tedy $c_i = f(x, t)$. Pro řešení je nutno zvolit vhodné okrajové a počáteční podmínky, tj. zvolit nějaký model. [16]

2.4.2 Difuzní koeficient

Číselně je difuzní koeficient D_i roven látkovému množství difundující složky n_i , jež projde jednotkovou plochou A za jednotku času t při jednotkovém koncentračním gradientu $\frac{\partial c_i}{\partial x}$.

Závisí na vlastnostech prostředí (teplotě a tlaku) a velikosti difundujících částic. Rozměr difuzního koeficientu má tvar (délka²·čas⁻¹), v soustavě SI tedy (m²·s⁻¹). [15] [16] [24]

Einstein odvodil vztah mezi difuzním koeficientem D_i , koeficientem tření f_i a absolutní teplotou T . Na disperzní částici (pokud zanedbáme vliv vnějších sil jako např. gravitace) působí současně hybná síla difuze F_{dif} a proti ní brzdná síla prostředí F_{tr} . V momentě, kdy se obě tyto síly vyrovnají, dojde k ustavení ustáleného stavu. [15]

Hnací silou difuze F_{dif} je gradient chemického potenciálu. Pro jednu částici platí [15]

$$F_{\text{dif}} = -\frac{1}{N_A} \left(\frac{\partial \mu_i}{\partial x} \right)_{T,p} = -\frac{RT}{N_A} \left(\frac{\partial \ln a_i}{\partial x} \right)_{T,p}. \quad (5)$$

Chemický potenciál složky i v roztoku je definován jako $\mu_i = \mu_i^\circ + RT \ln a_i$. Ve zředěném roztoku lze aktivitní koeficient a_i považovat za jednotkový, poté je možné rovnici (5) psát v následujícím tvaru: [15] [16]

$$F_{\text{dif}} = -\frac{RT}{N_A} \left(\frac{\partial \ln c_i}{\partial x} \right)_{T,p} = -\frac{k_B T}{c_i} \left(\frac{\partial c_i}{\partial x} \right)_{T,p}. \quad (6)$$

Brzdná síla tření F_{tr} je úměrná rychlosti pohybu částice u_i podle vztahu:

$$F_{\text{tr}} = u_i \cdot f_i, \quad (7)$$

kde se konstanta úměrnosti f_i nazývá koeficient tření (popř. frikční koeficient), který charakterizuje odpor prostředí proti pohybu částice. [15]

Pokud se obě tyto síly vyrovnají, dojde k ustavení ustáleného stavu, pro který platí: [15]

$$-\frac{k_B T}{c_i} \left(\frac{\partial c_i}{\partial x} \right)_{T,p} = u_i \cdot f_i. \quad (8)$$

Po vyjádření rychlosti pohybu částice u_i z rovnic (1) a (2),

$$u_i = -\frac{D_i}{c_i} \left(\frac{\partial c_i}{\partial x} \right)_{T,p}, \quad (9)$$

dostaneme Einsteinovu rovnici pro difuzní koeficient: [15]

$$D_i = \frac{k_B T}{f_i}. \quad (10)$$

Difuzní koeficient D_i je dle tohoto vztahu přímo úměrný teplotě T a nepřímo úměrný koeficientu tření f_i . Koeficient tření závisí na teplotě, rozměrech a tvaru částic a na vlastnostech disperzního prostředí. V kapalném prostředí obsahujícím velké částice oproti molekulám disperzního prostředí lze v systémech s kulovitými částicemi vyjádřit koeficient tření pomocí Stokesovy rovnice: [15]

$$f_i = 6\pi\eta_0 r_i. \quad (11)$$

kde r_i je poloměr částice a η_0 je viskozita disperzního prostředí. Dosazením tohoto vztahu do Einsteinovy rovnice dostaneme tzv. Einsteinovu-Stokesovu rovnici: [15]

$$D_i = \frac{k_B T}{6\pi\eta_0 r_i}. \quad (12)$$

Hodnoty difuzních koeficientů se v různých prostředích řádově liší. Nejrychlejší je difuze v plynech, kde jsou hodnoty difuzních koeficientů kolem $10^{-5} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Ve vodném prostředí se difuzní koeficienty malých až středně velkých molekul pohybují v řádech $10^{-9} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ a makromolekul pak v řádech $10^{-11} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. Extrémně pomalá je difuze v pevných látkách, tam hodnoty difuzních koeficientů činí řádově $10^{-20} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$. [16]

Metody používané ke stanovení difuzního koeficientu se obecně dělí do dvou kategorií, a to na ustálenou a neustálenou difuzi, jež jsou popsány v následujících dvou kapitolách 2.4.3 a 2.4.4.

2.4.3 Ustálená difuze

Ustálená difuze je děj, při kterém nedochází k rozdělení koncentrací s časem. Typickým příkladem je *difuze skrz tenký film (membránu)*.

Tloušťka tenkého filmu je l a její povrchy o souřadnicích $x = 0$ a $x = l$ jsou udržovány na konstantní koncentraci c_1 a c_2 . Po určitém čase, pokud je difuzní koeficient nezávislý na koncentraci, se v desce ustaví lineární rozdělení koncentrace, poněvadž difuzní tok všemi paralelními rovinami je stejný. Spolu s tím platí, že $\frac{dc_i}{dt}$ a také $\frac{d^2c_i}{dx^2}$ je rovno nule.

Koncentrační gradient v prvním Fickově zákoně je tedy neměnný: [24]

$$\frac{dc_i}{dx} = \text{konst.} = -\frac{c_1 - c_2}{l}. \quad (13)$$

Pro difuzní tok poté platí vztah: [24]

$$J_i = -D_i \frac{dc_i}{dx} = D_i \frac{c_1 - c_2}{l}. \quad (14)$$

Experiment je realizován s využitím difuzních cel, kdy je tenký film umístěn mezi dvě komory (zdrojovou a příjmovou). Ve zdrojové komoře se nachází roztok difundující látky a v příjmové komoře pak rozpouštědlo (většinou voda). Koncentrace difundující látky v obou komorách se však s časem mění a jejich hodnoty jsou průběžně sledovány. Vztah pro difuzní koeficient je pak následovný: [25]

$$D_i = \frac{\ln\left(\frac{\Delta c_0}{\Delta c_t}\right)}{\beta \cdot t}, \quad (15)$$

kde β je:

$$\beta = \frac{A}{l} \left(\frac{1}{V_1} + \frac{1}{V_2} \right), \quad (16)$$

Δc_0 je rozdíl koncentrací mezi zdrojovou a příjmovou celou na začátku (v čase $t = 0$), Δc_t je rozdíl koncentrací mezi zdrojovou a příjmovou celou v čase t , A je plocha, přes kterou látka difunduje, l je tloušťka membrány a V_1 , resp. V_2 jsou objemy jednotlivých komor. [25]

Difuzní koeficient D_i se pak stanovuje pomocí lineární regrese experimentálně získaných dat. Směrnice lineární části grafu závislosti výrazu $\ln\left(\frac{\Delta c_0}{\Delta c_t}\right)$ na součinu $\beta \cdot t$ totiž představuje stanovovaný difuzní koeficient. [25]

2.4.4 Neustálená difuze

V případech neustálené difuze dochází ke změnám koncentračního gradientu s časem. Existuje několik metod pro stanovení difuzního koeficientu při neustálené difuzi. Jak již bylo uvedeno výše, řešením II. Fickova zákona pro různé okrajové podmínky dostaneme koncentraci jako funkci polohy a času, tedy $c_i = f(x, t)$. Z tohoto vztahu poté různými matematickými úpravami dostaneme vzorec pro výpočet hodnoty difuzního koeficientu D_i . [24]

Difuze z okamžitého plošného zdroje

Experimentálně se tato metoda provádí tak, že se difundující látka nanese v podobě tenkého filmu (nasyceného filtračního papíru) na rovinný povrch difuzního prostředí, jež má ve směru difuze nekonečný rozměr. Pod pojmem nekonečný rozměr se myslí to, že difuzní dráha je vždy kratší než rozměr systému, ve kterém k difuzi dochází. [24] [25]

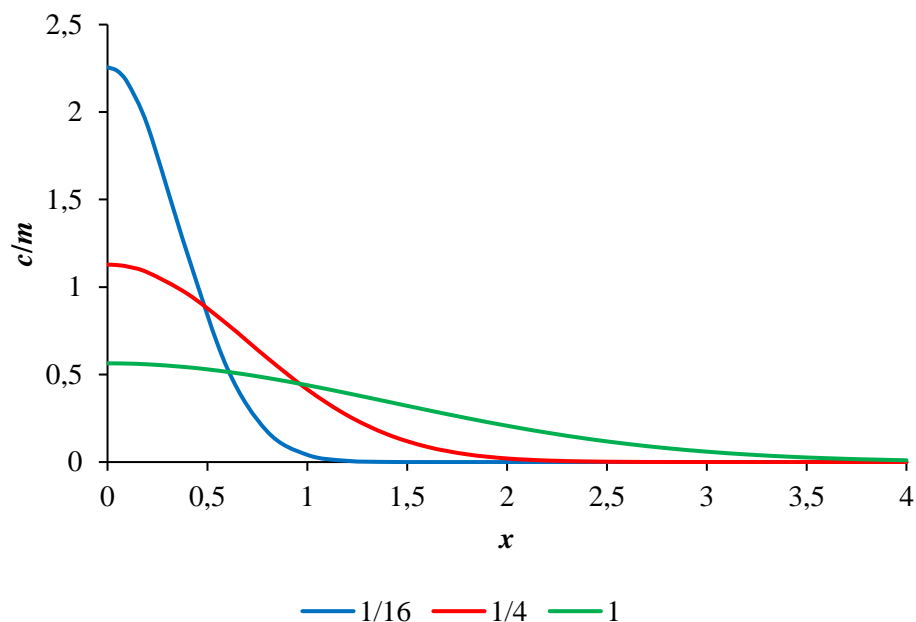
Difundující látka se tedy do systému dávkuje jednorázově přiložením filtračního papíru k jednomu jeho konci. Celkové množství takto nanesené difundující látky m_i v průřezu systému A v bodě $x = 0$ a čase $t = 0$ známe a šířku difundující látky l v čase $t = 0$ považujeme za nekonečně malou. Počáteční podmínky v tomto případě jsou tedy následující: [24] [25]

$$\begin{aligned} c_i &= m_i, & x &= 0, & t &= 0, \\ c_i &= 0, & x &> 0, & t &= 0. \end{aligned}$$

Pro jednotkovou plochu a jednorozměrnou difuzi po určitém čase difuze t je koncentrace látky c_i v různých místech systému dána vztahem: [24] [25]

$$c_i = \frac{m_i}{\sqrt{\pi D_i t}} e^{-\frac{x^2}{4 D_i t}}, \quad (17)$$

kde m_i tedy znamená množství difundující látky v čase $t = 0$ v rovině $x = 0$, x je vzdálenost od původního rozhraní a D_i je hledaný difuzní koeficient difundující látky v difuzním systému. Rozdělení koncentrací je pak naznačeno na obrázku 17. [24]



Obrázek 17: Rozdělení koncentrace u difuze z okamžitého plošného zdroje pro různé hodnoty $D_i t$, jež jsou uvedeny pod grafem [24], upraveno

Hodnotu difuzního koeficientu D_i vyjádříme z rovnice (17) po jejím zlogaritmování: [24]

$$\ln c_i = \ln \frac{m_i}{\sqrt{\pi D_i t}} - \frac{x^2}{4 D_i t}. \quad (18)$$

Vynesáním grafu závislosti logaritmu koncentrace $\ln c_i$ na druhé mocnině vzdálenosti od původního rozhraní x^2 dostaneme přímku, jejíž směrnice je $\operatorname{tg} \alpha = \frac{1}{4 D_i t}$. A právě z této směrnice lze vypočítat difuzní koeficient D_i : [24] [25]

$$D_i = \frac{1}{4 t \operatorname{tg} \alpha}. \quad (19)$$

Celkové množství difundující látky je při této metodě konstantní a je dáno vztahem [24]

$$m_t = \int_0^{+\infty} c_i dx. \quad (20)$$

Difuze z konstantního zdroje do nekonečného média

V případě tohoto typu difuze je difuzní médium v kontaktu se zdrojem difundující látky, jejíž koncentrace c_0 se nemění. Okrajové podmínky jsou: [24]

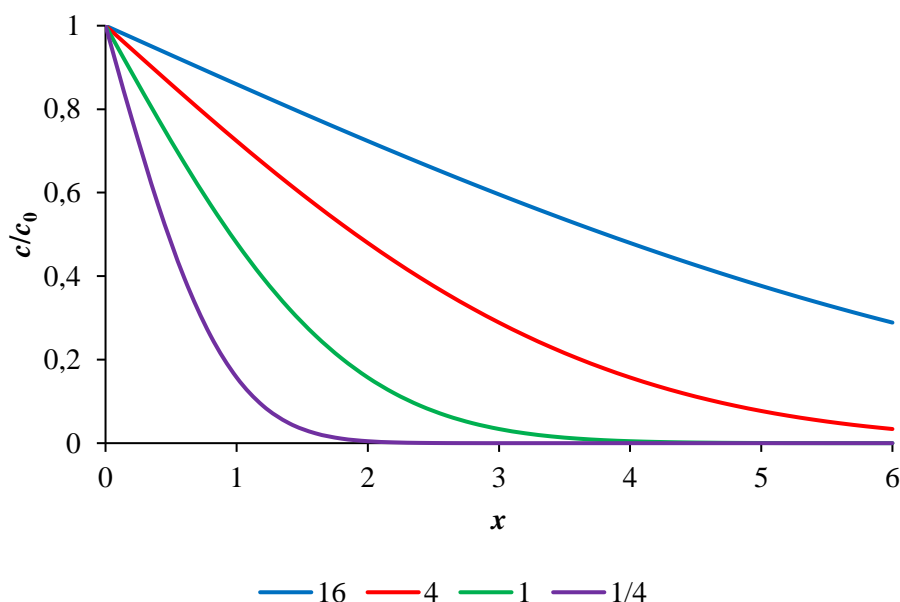
$$\begin{aligned} c_i &= 0, & x > 0, & \quad t = 0, \\ c_i &= c_0, & x = 0, & \quad t \geq 0. \end{aligned}$$

Integrováním II. Fickova zákona dostaneme rovnici tvaru: [24]

$$c_i = c_0 \operatorname{erfc} \frac{x}{2 \sqrt{D_i t}} = c_0 \operatorname{erfc} z. \quad (21)$$

Standardní matematická funkce $\text{erf } z$, resp. $\text{erfc } z$ je pravděpodobnostní integrál (tzv. chybová funkce), jehož hodnoty jsou tabelovány. [24]

Rozdělení koncentrace v závislosti na poloze je znázorněno na obrázku 18. Pokud je konstantní poměr koncentrací $\frac{c_i}{c_0}$ platí, že $\frac{x^2}{t} = \text{konst.}$ [24]



Obrázek 18: Rozdělení koncentrace u difuze z konstantního zdroje pro různé hodnoty $D_i t$, jež jsou uvedeny pod grafem [24], upraveno

Celkové množství látky m_t , jež projde rozhraním o jednotkové ploše A za daný čas t , je definováno jako: [24]

$$m_t = 2c_0 \sqrt{\frac{D_i t}{\pi}}. \quad (22)$$

Z daného vzorce lze pozorovat, že celkové množství prodifundované látky m_t je závislé na odmocnině času t . Dostáváme tzv. parabolický vztah, který je pro tento typ difuze příznačný. [24]

Difuze v páru nekonečných médií

Dva difuzní systémy, kdy jeden z nich obsahuje difundující látku, jsou ve vzájemném kontaktu tak, aby difundující látka prostupovala ze zdrojového systému do příjmového. S časem množství difundující látky ve zdrojovém difuzním médiu klesá. Porézní médium se považuje za nekonečné tak dlouho, dokud koncentrační profil nedosáhne konce tohoto média. [25]

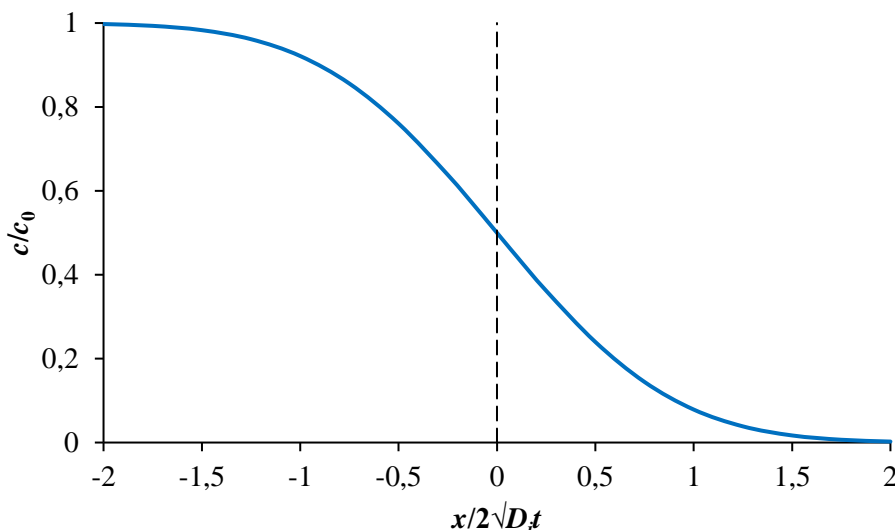
Počáteční a okrajové podmínky pro tento případ jsou následující: [24] [25]

$$\begin{aligned} c_i &= c_0, & x &\leq 0, & t &= 0, \\ c_i &= 0, & x &> 0, & t &= 0, \\ c_i &= c_0, & x &= -\infty, & t &> 0, \\ c_i &= 0, & x &= \infty, & t &> 0. \end{aligned}$$

Příslušné analytické řešení, vycházející z II. Fickova zákona, je: [24] [25]

$$c_i = \frac{1}{2} c_0 \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{D_i t}}. \quad (23)$$

Z této rovnice plyne, že pro $x = 0$ a $t > 0$ je $c_i = \frac{c_0}{2}$. Graficky znázorněné rozdělení koncentrace v tomto typu difuze je na obrázku 19. [24]



Obrázek 19: Rozdělení koncentrace u difuze v páru nekonečných médií [24], upraveno

Po uplynutí difuzního času t se difuzní média nakrájí a pomocí vhodné analytické metody se zjistí koncentrace v jednotlivých nakrájených plátcích média, čímž dostaneme koncentrační profil potřebný k vyhodnocení difuzního koeficientu D_i . [25]

Pomocí známé koncentrace c_i v místě x a čase t a počáteční koncentrace c_0 vypočteme hodnotu výrazu $\operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{D_i t}}$, které pomocí tabulky erfc z hodnot přiřadíme příslušnou hodnotu z , která

odpovídá výrazu $\frac{x}{2\sqrt{D_i t}}$. Z té pak vyjádřením získáme difuzní koeficient D_i . Pokud ovšem

máme větší počet údajů o rozložení koncentrace pro daný čas t , je vhodné vynést závislost z na vzdálenosti x , která má průběh přímky, jejíž směrnice je $\operatorname{tg} \alpha = \frac{1}{2\sqrt{D_i t}}$. Difuzní koeficient D_i

pak získáme ze vztahu: [24]

$$D_i = \frac{1}{4t \operatorname{tg}^2 \alpha}. \quad (24)$$

Difuzní koeficient lze také určit ze stanovení celkového množství difundující látky m_t převedeného z jednoho média do druhého v určených časech t . [25]

Difuze v rovinné desce

Další možnou konfigurací je difuze, kde je difundující látka v čase $t = 0$ soustředěna v oblasti tvaru desky o tloušťce $2l$. Původní koncentrace látky je c_0 a koncentrace této látky v okolním médiu je rovna 0. Množství difundující látky v desce pak s časem klesá. [24] [25]

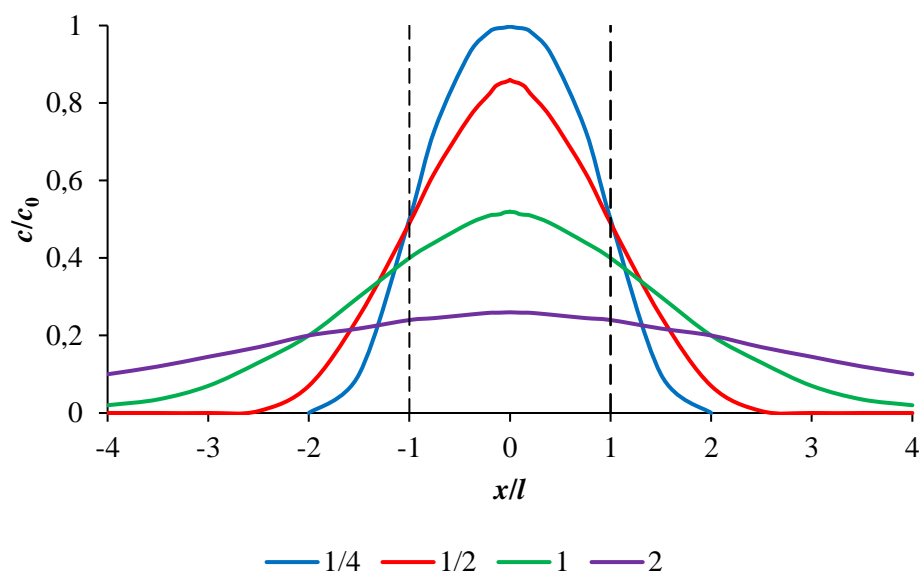
Pro tento případ jsou počáteční a okrajové podmínky následující: [25]

$$\begin{aligned} c_i &= 0, & x < -l, & \quad t = 0, \\ c_i &= 0, & x > l, & \quad t = 0, \\ c_i &= c_0, & -l \leq x \leq l, & \quad t = 0, \\ c_i &= 0, & x = \pm\infty, & \quad t > 0. \end{aligned}$$

Řešením je pak vztah: [24] [25]

$$c_i = \frac{1}{2} c_0 \left[\operatorname{erf} \frac{l-x}{2\sqrt{D_i t}} + \operatorname{erf} \frac{l+x}{2\sqrt{D_i t}} \right]. \quad (25)$$

Grafické znázornění rozdělení koncentrace po různých časech je ukázáno na obrázku 20. [24]



Obrázek 20: Rozdělení koncentrace u difuze z desky pro různé hodnoty $\sqrt{D_i t}/l$, jež jsou uvedeny pod grafem [24], upraveno

Z tohoto grafu je patrné, že systém lze beze změny rozložení koncentrace rozdělit rovinou $x = 0$ na dvě symetrické části. Tímtož výrazem se proto vyjadřuje i koncentrace v polonekonečném systému skládajícího se např. z vrstvy roztoku o tloušťce l , převrstvené dlouhým sloupcem rozpouštědla. [24]

2.4.5 Ovlivnění hodnoty difuzního koeficientu

K matematickému popisu nejjednodušší jednorozměrné difuze, jak už bylo dříve několikrát zmíněno, slouží II. Fickův zákon:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_i \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}. \quad (26)$$

Ten však platí pouze v případech, ve kterých lze zanedbat vlivy jako je např. koncentrační tok vyvolaný teplotním gradientem či změna koncentrace v důsledku interakcí mezi difundující látkou a difuzním médiem. [27]

Při studiu difuze v tak komplexních médiích jako jsou agarosové hydrogely s obsahem huminových kyselin je transport difundující látky, v tomto případě barviva, komplikován hned několika vlivy. Díky poréznímu charakteru gelu zde dochází k redukci plochy, přes kterou látka difunduje (za předpokladu, že difundující látka nemůže pronikat do pevné fáze gelu), proto je nutno zavést veličinu s názvem efektivní podíl plochy ϕ . Difuze v gelech je dále ovlivněna délkou difuzní dráhy, jež je díky existenci neprostupných pevných fází více klikatá, tudíž delší. Tuto skutečnost popisuje veličina známá jako tortuozita τ . Dalším komplikujícím vlivem jsou možné specifické interakce difundujících částic s látkami obsaženými v gelové síti, pak tedy musí být rovnice (26) doplněna i o složku reakční rychlosti. [25] [27] [28]

Analytické řešení II. Fickovy rovnice se zahrnutím všech těchto vlivů je složité, proto se používá určité zjednodušení. Toto zjednodušení je založeno na předpokladu, že se zahrnutím výše uvedených vlivů se nemění charakter difuzního procesu, ale pouze hodnota difuzního koeficientu. Výsledkem je pak modifikovaná forma II. Fickova zákona: [27] [28]

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_{\text{eff}} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}, \quad (27)$$

kde je efektivní difuzní koeficient D_{eff} ovlivněn jak chemickými interakcemi difundované látky s huminovými kyselinami, tak i transportem difundující látky přes gelovou matici. Vliv chemické reakce lze matematicky popsat touto rovnicí: [29]

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_i^* \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - r^*, \quad (28)$$

kde difuzní koeficient D_i^* zahrnuje pouze vliv porézní struktury gelu a r^* značí rychlost chemické reakce. Předpokládá se rychlá chemická reakce za přítomnosti lokální rovnováhy mezi volnými molekulami difundující látky c_{free} a těmi imobilizovanými c_{im} , pro kterou platí vztah:

$$c_{\text{im}} = K_{\text{ap}} c_{\text{free}}, \quad (29)$$

v němž figuruje zdánlivá rovnovážná konstanta K_{ap} . Rovnice (28) tedy může být psána jako:

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = D_i^* \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} - K_{\text{ap}} \frac{\partial c_i}{\partial t}, \quad (30)$$

a po upravení dostaneme: [27] [29]

$$\frac{\partial c_i}{\partial t} = \frac{D_i^*}{1 + K_{ap}} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2} = D_{eff} \frac{\partial^2 c_i}{\partial x^2}. \quad (31)$$

Difuzní koeficient v gelu D_i^* je závislý na efektivním podílu plochy φ a tortuozitě τ (vyjádřených strukturálním faktorem μ) podle následujícího vztahu: [29]

$$D_i^* = \frac{\varphi}{\tau} D_i = \mu D_i, \quad (32)$$

kde D_i je difuzní koeficient ve vodě (tj. bez vlivů). Efektivní difuzní koeficient D_{eff} je tedy ve výsledku definován jako: [29]

$$D_{eff} = \frac{D_i^*}{1 + K_{ap}} = \frac{\mu D_i}{1 + K_{ap}}. \quad (33)$$

2.5 Současný stav řešené problematiky

Náplní této diplomové práce je studium transportních procesů v hydrogelových maticích s obsahem huminových látek. Hydrogely jsou hojně využívány z důvodu snadné přípravy a přesně definovatelných vlastností. Navíc difuze látek v těchto médiích není ovlivněna konvekcí. Huminové látky jsou díky své struktuře vhodnými interakčními činidly pro různé polutanty. V této práci se jako modelové látky polutantů použila organická barviva, takže přednostně budou diskutovány interakce huminových látek s barvivy, poté bude následovat výčet prací zabývajících se interakcemi s jinými látkami, a nakonec jsou v této kapitole zahrnuty konkrétní příklady difuzních technik použitých při studiu transportu látek skrz huminové kyseliny ve formě hydrogelu.

2.5.1 Studium interakcí barviv s huminovými látkami

Reference [30] pojednává o Fe_3O_4 nanočásticích potažených vrstvou huminových kyselin (HA- Fe_3O_4). Tyto částice byly použity jako adsorbenty methylenové modři a výsledky ukázaly, že adsorbují větší množství methylenové modři než samotné Fe_3O_4 nanočástice či pevné huminové kyseliny. HA- Fe_3O_4 nanočástice zůstávají stabilní v širokém rozmezí pH, konkrétně od 3 po 11. Adsorpční kinetika byla popsána rovnicí pseudo-druhého řádu a čas, kdy bylo adsorbováno 50 % methylenové modři, činil 7 min. Adsorpční izoterma nanočástic HA- Fe_3O_4 byla v dobré shodě s Langmuirovou sorpční rovnicí a maximální adsorbované množství methylenové modři za daných podmínek bylo $0,291 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$. HA- Fe_3O_4 nanočástice byly dále podrobeny recyklaci, tedy desorpci (za použití směsi methanolu a kyseliny octové) a opětovné sorpci methylenové modři. Adsorbované množství se i po 8 cyklech významně nesnížilo.

V další referenci [31] zabývající se adsorpcí methylenové modři byl jako adsorbent použit expandovaný perlit modifikovaný huminovou kyselinou (HA/EP). Adsorpce methylenové modři na HA/EP byla závislá na počáteční koncentraci barviva, hodnotě pH, iontové síle a době kontaktu. S rostoucí hodnotou pH rostlo i množství absorbované methylenové modři, naopak s rostoucí koncentrací chloridu sodného a s rostoucí teplotou adsorpční kapacita klesala. Za optimálních podmínek maximální adsorpční kapacita HA/EP dosáhla hodnoty $78,2 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, jež

byla významně vyšší než u samotného expandovaného perlitu ($< 1 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$). Adsorpční kinetika byla popsána pomocí rovnice pseudo-druhého řádu. Zjištěné hodnoty termodynamických konstant ΔG_0 , ΔH_0 a ΔS_0 signalizovaly, že se jedná o spontánní, exotermní a entropii snižující povahu adsorpce na HA/EP.

Rašelina, jak ukazuje studie [32], je další vysoce účinný materiál pro odstraňování methylenové modři z vodného roztoku, přičemž v některých případech dochází k odstranění vyššímu než 90 %. Adsorpce methylenové modři na rašelinu byla zkoumána za použití různé počáteční koncentrace roztoků methylenové modři ($200\text{--}1500 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$) a při třech různých teplotách (35, 45 a 60°C). K dosažení rovnováhy docházelo při adsorpční době kolem 4,5 hod. Procento adsorpce methylenové modři bylo vyšší u zředěných roztoků, ale absolutní adsorbované množství methylenové modři v rovnovážném stavu se zvyšuje s rostoucí počáteční koncentrací methylenové modři. Teplota ovlivnila sorpci pouze mírně. Adsorpce není pouze monomolekulární, probíhá ve více vrstvách a celková míra sorpčního procesu vyplývá z kombinace dvou mechanismů (pseudo-druhého řádu a intračasticové difuze).

V článku [33] autoři zkoumali humát železitý jako sorbent pro odstraňování základních barviv (konkrétně methylenové modři, methylové violeti, krystalové violeti, malachitové zeleně a rhodaminu B) z vody. Sorpce barviv byla popsána vícemístnou Langmuirovou izotermou, z jejichž parametrů byly vypočteny sorpční kapacity. Tyto kapacity nabývaly hodnot $0,01\text{--}0,09 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ pro jednotlivá barviva. Dále byla provedena podrobnější studie s methylenovou modří, kdy se zkoumat vliv složení vodné fáze na sorpci. Hodnota pH a přítomnost anorganických solí měly na sorpci pouze malý vliv. Přítomnost aniontového povrchově aktivního činidla, kterým byl dodecylsulfát sodný, se sorpce methylenové modři výrazně zvýšila. Byly navrženy dva mechanismy popisující sorpci barviv v přítomnosti aniontových povrchově aktivních: sorpce barviv na polární aktivní místa a sorpce relativně malých agregátů barviva s povrchově aktivní látkou na nepolární části sorbentu. Sorpce probíhala poměrně rychle, ať už v přítomnosti nebo nepřítomnosti dodecylsulfátu sodného, většina barviva byla sorbována během prvních několika hodin.

V referenci [34] bylo zjištěno, že pro sorpci barviv lze využít i oxyhumolit neboli oxidované mladé hnědé uhlí. Byla zkoumána adsorpce základních (methylenová modř, malachitová zeleň) a kyselých (egacidová oranž, midlonová čern) barviv z vod. Maximální sorpční kapacity, zjištěné z parametrů Langmuirovy izotermy, se pohybují v rozmezí od $0,070 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ (pro midlonovou čern) k $0,278 \text{ mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ (pro malachitovou zeleň). Sorpce barviv (kromě midlonové černě) byla v přítomnosti anorganické soli zvýšena. Neiontové povrchově aktivní látky a povrchově aktivní látky nesoucí stejný náboj jako barvivo vykazovaly pouze malý vliv na sorpci barviva, zatímco opačně nabitě povrchově aktivní látky do určité míry zvyšovaly jejich sorpci. S rostoucí hodnotou pH docházelo k potlačení sorpce kyselých barviv, kdežto sorpce základních barviv zůstala ve zkoumaném rozsahu pH téměř beze změn.

Biologicky odbouratelným adsorbentem se zabývají autoři v článku [35]. Adsorbentem je zde kompozit škrobu a huminové kyseliny (ST-HA) a využívá se k adsorpčnímu odstranění Pb^{2+} a methylenové modři. Mechanismy adsorpce Pb^{2+} a methylenové modři na ST-HA jsou odlišné, u Pb^{2+} působí pouze elektrostatické interakce se zápornými skupinami huminových kyselin, kdežto u methylenové modři se navíc uplatňují π - π interakce s aromatickými cykly huminových kyselin. Právě v důsledku pH citlivých aniontových skupin huminových kyselin byla pozorována závislost adsorpce daných látek na ST-HA na hodnotě pH, a to hlavně pro sorpci Pb^{2+} . V kyselých roztocích pak díky tomu docházelo k selektivní adsorpci methylenové modři. Stejně jako ve výše uvedených referencích byla adsorpční kinetika popsána rovnicí pseudo-druhého řádu. I zde je možné kompozit několikrát snadno regenerovat a efektivně znovu použít s malou ztrátou adsorpční kapacity.

2.5.2 Studium interakcí jiných látek s huminovými látkami

Huminové kyseliny nejsou schopny interagovat pouze s barvivý, jak je patrné z článku [35]. Vazebné schopnosti huminových kyselin byly zkoumány například ve spojitosti s kovovými ionty jako Cu^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} [36] [37], Ni^{2+} , Ca^{2+} , Al^{3+} [36] [38], Hg^{2+} , Ag^{2+} , Ba^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , V^{4+} , Cr^{3+} , Fe^{3+} [36] nebo třeba Eu^{3+} a U^{6+} [39]. Dále existují články zabývající se interakcemi huminových kyselin s nanočásticemi stříbra [40], TiO_2 nanočásticemi [41] nebo také s organickými látkami jako benzo(a)pyren a pentachlorfenol [42], farmaceutickými přípravky – vitamíny B₁ a B₆, papaverin a benzohexonium [43], sulfonamidovými antibiotiky [44], lidskou DNA [45], proteiny [46], herbicidy (paraquat, 2,4-dichlorofenoxyoctová kyselina a atrazin) či pesticidy (chlordimeform a lindan) [47].

2.5.3 Difuze barviv v huminových gelech

Autoři práce [48] zkoumali vliv interakcí huminových kyselin (izolovaných z jihomoravského lignitu) na transport kationtového barviva metodou difuzních cel. Experiment byl proveden s roztokem methylenové modři, která difundovala skrz agarosový hydrogel s a bez přídavku huminové kyseliny. Výsledky ukazují imobilizační účinky huminových kyselin na transport methylenové modři v těchto gelech, jelikož dochází k prodloužení času potřebného na její průchod skrz gelovou matici. Tento čas roste s rostoucí koncentrací huminové kyseliny v gelu.

Stejní autoři v jejich další práci [27] použili metodu nestacionární difuze, kde stanovovali koncentraci barviv v různých vzdálenostech gelové matrice. Experiment byl proveden na dvou kationtových barvivech (methylenová modř a rhodaminu 6G), které opět difundovaly v hydrogelech s různým obsahem agarosy a huminových kyselin. Společně s vlivem obsahu jednotlivých komponent gelu zkoumali vliv teploty, pH a iontové síly. Koncentrační profily barviv ukazují, že jejich průnik do gelu je jen mírně zpomalen zvýšeným obsahem agarosy, ovšem již malý obsah huminových kyselin vede k patrnému zpomalení pronikání barviv v gelu. Imobilizační účinky huminových kyselin pro obě barviva tedy rostou s rostoucí hodnotou obsahu huminových kyselin a klesají s rostoucí hodnotou pH. Výsledky dále naznačují, že sorpce methylenové modři je s rostoucí teplotou silně potlačována, zatímco sorpci rhodaminu 6G teplota nijak výrazně neovlivňuje.

V dalších člancích [49] [50] autoři, stejně jako v práci [48], zkoumali reaktivitu a bariérové vlastnosti huminových kyselin metodou difuzních cel za použití methylenové modři jako difundujícího média. Ovšem zde byl studován mimo jiné i vliv modifikace huminových kyselin. Huminové kyseliny použité v práci [49] byly extrahovány z jihomoravského lignitu. Modifikace spočívala v methylaci, tedy pokrytí karboxylových skupin huminových kyselin methylovými, čímž byl eliminován vliv karboxylových skupin na reaktivitu huminových kyselin. V práci [50] byly difuzní experimenty prováděny na standardu huminové kyseliny (IHSS Leonardite) a rovněž její methylované formě. Obě práce dospěly ke stejným poznatkům. Prvním je ten, že hodnoty efektivních difuzních koeficientů se s rostoucí koncentrací obou typů huminových kyselin snižovaly, a naopak časy potřebné k průchodu barviva skrz gelovou matici se zvyšovaly. A druhým je ten, že míra interakcí huminových kyselin s barvivem je závislá na množství karboxylových skupin v jejich struktuře. Proto jsou interakce mezi methylovanými huminovými kyselinami a barvivem omezeny, což se projevilo vyšší hodnotou efektivních difuzních koeficientů a nižším časem potřebným pro průchod skrz gelovou matici oproti nemodifikované formě příslušných huminových kyselin. Autoři i přesto došli k závěru, že modifikace huminových kyselin má pouze malý vliv na reaktivitu a bariérové vlastnosti huminových kyselin, jelikož rozdíly efektivních difuzních koeficientů barviv a časů průchodu barviv skrz gelovou matici s obsahem huminové kyseliny nebyly tak významné, jak předpokládali.

2.5.4 Difuze jiných látek v huminových gelech

Několik prací bylo zaměřeno na studium transportních a imobilizačních vlastností hydrogelů s obsahem huminových kyselin pomocí kovových iontů, konkrétně tedy Cu^{2+} .

Autory reference [29] byla využita metoda okamžitého plošného zdroje, přičemž se autoři zabývali zkoumáním vlivu struktury huminových kyselin na transport Cu^{2+} . Celkem bylo studováno 8 vzorků huminových kyselin extrahovaných z jihomoravského lignitu, lišících se podmínkami extrakce (4 vzorky) a jejich methylací (4 vzorky). Zde bylo mimo jiné zjištěno, že blokace funkčních skupin huminových kyselin methylací významně ovlivňuje transport Cu^{2+} .

V práci [51] byla difuze Cu^{2+} iontů studována metodou difuzního páru. Celkem byly použity tři typy gelů – základní huminový gel (gel A), huminový gel se zabudovanými Cu^{2+} ionty difuzí (gel B) a srážením (gel C). Difuzní pár byl realizován spojením dvou silikonových trubiček, přičemž jeden byl naplněn gelem B nebo C a druhý gelem A. Na rozhraní difuzního páru A/B byl koncentrační profil spojitý, kdežto u páru A/C byl patrný skok, což značí, že difuze Cu^{2+} iontů je závislá na podmínkách tvorby gelu. Tvorbou gelu je ovlivněna i hodnota efektivního difuzního koeficientu. Kdy nejnižší hodnota byla pozorována u gelu C.

Další práce [52] zabývající se studiem transportu Cu^{2+} iontů použila hned dvě metody ke stanovení difuzního koeficientu Cu^{2+} , a to metodu difuze z konstantního zdroje a metodu difuze z časově proměnného zdroje. Dále autoři zkoumali vliv počáteční koncentrace a difuzního času na celkový difuzní tok.

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- methylenová modř – Lach:ner s r.o.
- rhodamin 6G – Sigma-Aldrich Co.
- huminové kyseliny – IHSS standardy: Leonardite (1S104H), Elliott Soil (1S102H), Suwannee River II (2S101H) a Pahokee Peat (1S103H)
- hydroxid sodný – 0,5M, Penta Chrudim
- kyselina chlorovodíková – 1M, Lach:ner s r.o.
- agarosa – for routine use, Sigma-Aldrich Co.
- bromid draselný – Sigma-Aldrich Co.
- destilovaná voda

3.2 Použité přístroje

- magnetická míchačka – Thermo Scientific Variomag POLY
- pH metr – MettlerToledo SevenMulti
- elektrický vařič – ETA
- digitální teploměr – Greisinger electronic GMH 175
- analytické váhy – ScalTec SBC 31
- váhy – ScalTec SPB 42
- UV–VIS spektrometr – Varian Cary 50
- počítač s programem Cary WinUV
- FTIR spektrometr – Thermo Scientific Nicolet iS50 s DRIFTS nástavcem
- počítač s programem OMNIC 9.0
- počítač s programem Origin Pro 7.5 a Microsoft Office Excel

3.3 Příprava difuzních roztoků

Navážka 0,01 g práškového barviva (methylenové modři, respektive rhodaminu 6G) byla rozpuštěna v 1 l destilované vody. Difuzní roztok byl umístěn na magnetickou míchačku, kde byl ponechán k úplnému rozpuštění po dobu 2 hodin při 250 otáčkách za minutu. Takto připravený roztok měl koncentraci $0,01 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Po provedení experimentů spojených s optimalizací metody byly roztoky těchto barviv naředěny desetkrát, tedy na koncentraci $0,001 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Důvod byl následující: hodnoty absorpance barviv sorbovaných v agarosovém hydrogelu byly mimo měřitelný rozsah přístroje.

3.4 Příprava roztoku huminových kyselin

V 50 ml 0,5M hydroxidu sodného byla rozpuštěna navážka 0,1 g příslušného standardu huminové kyseliny (Leonardite, Elliott Soil, Suwannee River II a Pahokee Peat). Roztok byl umístěn na míchačku, kde byl ponechán do dokonalého rozpuštění po dobu 24 hodin při 250 otáčkách za minutu. Daný roztok byl následně okyselen 1M kyselinou chlorovodíkovou na finální pH rovno 7 a poté v odměrné baňce doplněn destilovanou vodou na objem 100 ml. Takto připravený roztok příslušné huminové kyseliny měl koncentraci $1 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$.

3.5 Příprava hydrogelů

Pro přípravu hydrogelů, potřebných pro difuzní pokusy, byla využita termoreverzibilní gelace roztoku agarosy. V případě agarosového hydrogelu bez huminové kyseliny byl obsah agarosy 1 hm. %, u agarosových hydrogelů s přidavkem huminové kyseliny byl obsah agarosy 1 hm. % a obsah huminové kyseliny 0,01 hm. %.

Samotná příprava agarosového hydrogelu bez přidavku huminové kyseliny byla provedena tak, že do 10 ml destilované vody bylo vsypáno 0,1 g agarosy. Pro dokonalé rozpuštění byla suspenze agarosy ve vodě zahřána na 85 °C a vzniklý průhledný roztok byl ještě za horka nalit do plastové kyvety a po dobu 45 minut byl ponechán volně na vzduchu k tuhnutí pomalým ochlazováním na laboratorní teplotu. Roztok byl do kyvety nalit v přebytku (vytvořil se nad hranou kyvety kopeček) a tento přebytek byl po 45 minutách seříznut skalpelem, čímž se vytvořila rovná plocha rozhraní.

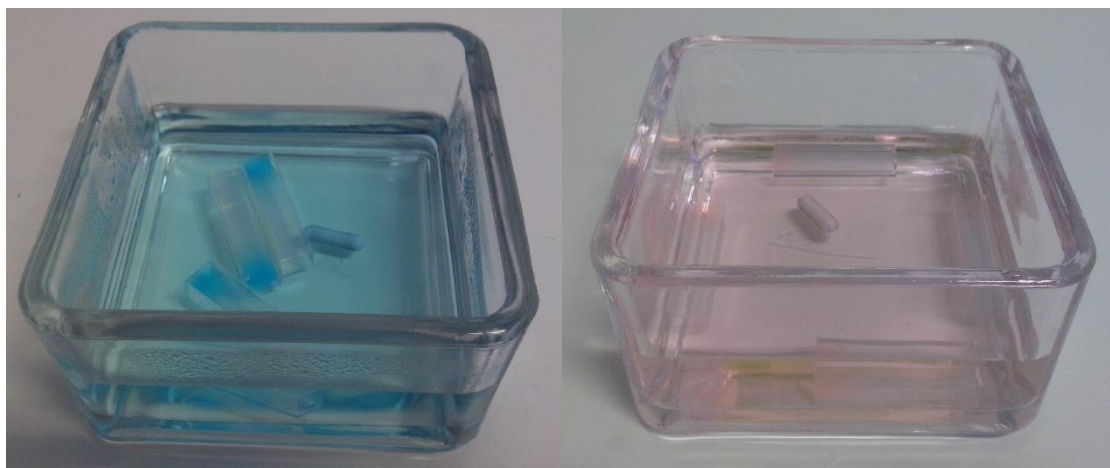
Agarosový hydrogel s přidavkem huminové kyseliny byl připraven obdobně jako ten bez přidavku, s tím rozdílem, že 0,1 g agarosy bylo vsypáno do roztoku, připraveného smícháním 9 ml destilované vody a 1 ml roztoku huminové kyseliny. Vzniklá suspenze byla opět zahřána na 85 °C, roztok byl nalit do plastové kyvety, kde byl ponechán k tuhnutí a po uplynutí 45 minut potřebných ke vzniku gelu byl seříznut jeho přebytek.

3.6 Vlastní experiment

Vždy čtyři kyvety s příslušným gelem byly ponořeny do nádoby s 250 ml roztoku daného barviva o koncentraci $0,001 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$, kde byly ponechány do úplného nasycení barvivem. Roztok barviva byl kontinuálně míchán pomocí magnetické míchačky a míchadélka umístěného v uzavřené nádobce s barvivem. Pro kontrolu průběhu nasycení gelu byl prostor kyvety proměřován pomocí UV–VIS spektrometru Varian Cary 50 se speciálním polohovacím nástavcem umožňujícím měřit UV–VIS spektra v různých polohách kyvety (v různých vzdálenostech od ústí kyvety).

Po ustavení stejné koncentrace barviva v celém prostoru kyvety byly kyvety vyjmuty z roztoku barviva a vloženy do nádoby s 200 ml destilované vody, do které bylo vloženo míchadélko, a takto připravená uzavřená nádoba byla umístěna na míchačku s nastavenou rychlostí otáčení 250 otáček za minutu. Změny koncentrace barviva v prostoru jednotlivých kyvet byly proměřovány v časových intervalech 24, 48, 72, 96 a 168 hodin opět pomocí UV–VIS spektrometru Varian Cary 50.

Veškerá absorpční spektra byla proměřována v oblasti vlnových délek od 300 do 900 nm s krokem 1 nm a rychlostí $4\,800\text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$. Jako referenční vzorek byla použita destilovaná voda. Pro sledování sorpční části experimentu postačilo proměřovat spektra gelů v intervalu co 5 mm od ústí kyvety, u měření desorpční části byl tento interval snížen na 1 mm. Optická dráha kyvet byla 10 mm.



Obrázek 21: Kyvety obsahující agarosový gel v nádobách s příslušným barvivem po 2 dnech sorpce (vlevo methylenová modř, vpravo rhodamin 6G)

3.7 Infračervená spektroskopie

Infračervená spektroskopie nebyla využívána ke sledování difuzního experimentu, nýbrž k charakterizaci použitých standardů huminových kyselin. Konkrétně byla využita metoda DRIFTS (Diffuse Reflectance Infrared Fourier Transform Spectroscopy), tedy metoda difuzního odrazu, jejíž podstatou je fokusace infračerveného paprsku na pevný vzorek a převedení difuzně rozptýleného záření na detektor.

Měřený vzorek huminového standardu byl připraven následujícím způsobem, ve třetí misce bylo rozetřeno vždy 200 mg vyžíhaného bromidu draselného, k němuž byly poté přidány zhruba 2 mg vzorku huminové kyseliny. Vzniklá směs byla důkladně promísena a nasypána na příslušné místo DRIFTS nástavce. Po menších úpravách polohy vzorkovací pánvičky v DRIFTS cele byla změřena difuzně-reflexní FTIR spektra.

Měření probíhalo v rozmezí vlnočtů od 400 do 4000 cm^{-1} s rozlišením 4 cm^{-1} a počtem akumulovaných záznamů 256. Naměřená spektra byla pomocí softwaru OMNIC 9.0 převedena na jednotky Kubelka-Munk, jež odpovídají absorbanci při transmisním měření.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Charakterizace použitých huminových kyselin

Pro lepší pochopení rozdílných interakcí použitých standardů huminových kyselin s organickými barvivy bylo nutné tyto standardy charakterizovat. K tomuto účelu byly využity dvě techniky – elementární analýza a infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací.

4.1.1 Elementární analýza

Jednotlivé standardy byly podrobeny elementární analýze, jež zkoumá zastoupení základních prvků v jejich strukturách. Při analýze byla pozornost zaměřena na obsah následujících elementárních prvků – uhlík, vodík, kyslík a dusík. Výsledky byly převzaty z webové stránky společnosti IHSS [53], pro kterou tuto analýzu vykonala společnost Huffman Laboratories (USA). Uvedené prvkové složení v hmotnostních procentech bylo přepočteno na procenta atomová, jež jsou shrnuta v tabulce 3. Přepočet byl proveden za účelem eliminace podhodnocení obsahu vodíku, jehož atomová hmotnost je mnohem menší než ostatních prvků.

Tabulka 3: Elementární analýza použitých huminových kyselin [53]

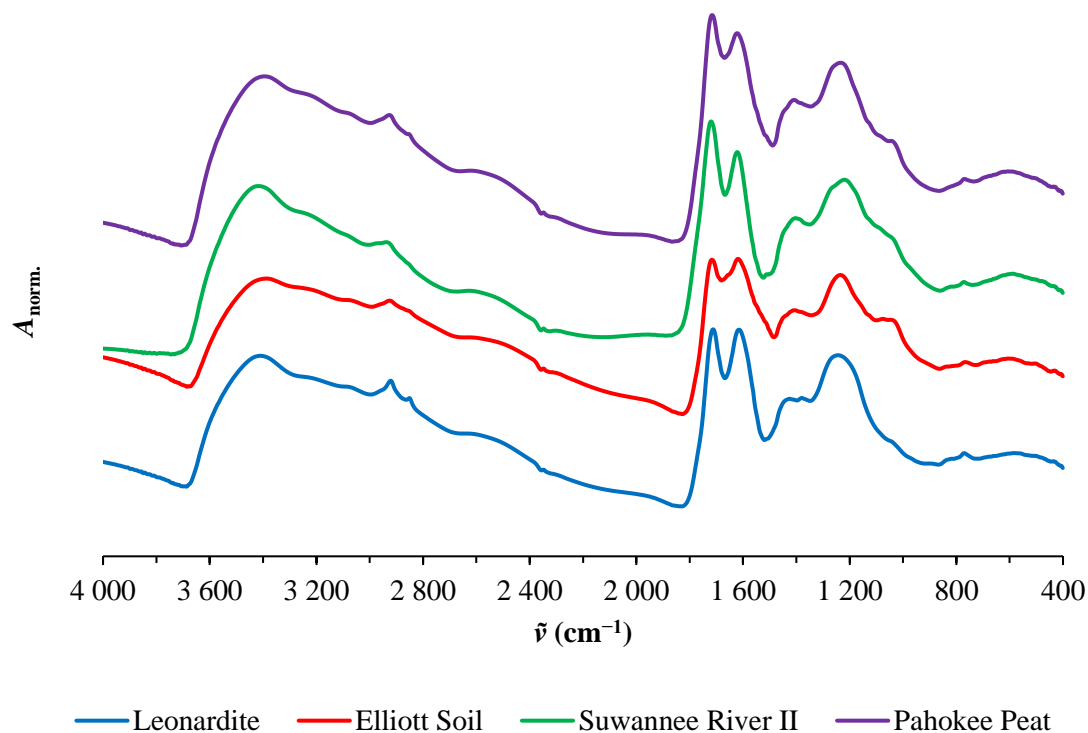
standard	vztaženo na suchý vzorek bez popela				Poměr	
	C (at. %)	H (at. %)	O (at. %)	N (at. %)	C/H	C/O
Leonardite	48,18	33,29	17,73	0,80	1,45	2,72
Elliott Soil	44,34	33,45	19,51	2,71	1,33	2,27
Suwannee River II	38,64	37,45	23,17	0,74	1,03	1,67
Pahokee Peat	42,36	34,20	21,06	2,38	1,24	2,01

Výsledky poukazují na to, že největší obsah uhlíku má standard Leonardite, který je jím tvořen téměř z poloviny (konkrétně ze 48,18 at. %). Naopak nejmenší obsah uhlíku (38,64 at. %) má standard Suwannee River II, což u vzorku huminové kyseliny extrahované z vodního prostředí není neobvyklé. Dalším zkoumaným prvkem byl vodík, ten tvoří cca třetinu huminových kyselin. Nejvíce vodíku obsahuje standard Suwannee River II (37,45 at. %) a nejméně Leonardite (33,29 at. %), tedy přesně opačně, než tomu je u obsahu uhlíku. Tak samo je to s obsahem kyslíku, jež je nejvyšší právě u huminové kyseliny Suwannee River II (23,17 at. %). U vzorků Elliot Soil a Pahokee Peat, tedy vzorku půdní a rašelinové huminové kyseliny, je patrný vyšší obsah dusíku (2,71 a 2,38 at. %) oproti ostatním standardům (0,80 at. % pro Leonardite a 0,74 at. % pro Suwannee River II), jež je indikátorem činnosti mikroorganismů.

Elementární poměr C/H lze vnímat jako poměr udávající aromaticitu či stupeň nenasycenosti. Předpokládá se, že čím vyšší tento poměr je, tím více aromatických struktur případně nenasycených vazeb huminová kyselina obsahuje. Největší C/H poměr je u huminové kyseliny Leonardite (1,45) a nejnižší naopak u Suwannee River II (1,03). V případě atomárního poměru C/O, jež poskytuje informace o obsahu kyslíkatých funkčních skupin, je největší poměr zaznamenán u huminové kyseliny Leonardite (2,72), jež svědčí o malém obsahu kyslíkatých funkčních skupin. U standardu Suwannee River II je elementární poměr C/O nejnižší (1,67) tzn., že tento vzorek obsahuje největší množství kyslíkatých funkčních skupin.

4.1.2 Infračervená spektroskopie

Jednotlivé standardy byly dále podrobeny infračervené spektroskopii s Fourierovou transformací na přístroji Nicolet iS50 vybaveným DRIFTS nástavcem. Výsledky této analýzy byly zpracovány v podobě grafické závislosti normalizované absorpce na vlnótu, která je zobrazena na obrázku 22.



Obrázek 22: Infračervené spektrum použitých huminových kyselin

Z uvedeného infračerveného spektra použitých standardů huminových kyselin lze usuzovat na přítomnost různých funkčních skupin. Široký pás v rozmezí vlnótu $3\,600\text{--}3\,200\text{ cm}^{-1}$ značí přítomnost vodíku v --OH skupinách. Nejintenzivnější je právě v případě standardu Pahokee Peat. V oblasti $2\,930\text{--}2\,920\text{ cm}^{-1}$ se nachází pík, jež lze interpretovat jako asymetrické a symetrické valenční vibrace alifatických C--H vazeb $\text{--CH}_2\text{--}$ a --CH_3 skupin. Nejpatrnější je v případě huminové kyseliny Leonardite a Pahokee Peat. Mezi $2\,650\text{--}2\,590\text{ cm}^{-1}$ se u všech těchto standardů nachází široký slabý pás jež odpovídá vibraci vodíkových můstků mezi --COOH skupinami. Ostrý absorpční pás při vlnótu $1\,715\text{ cm}^{-1}$ patří valenčním vibracím C=O skupin v --COOH či --COOR skupinách a nejintenzivnější je v případě Pahokee Peat a Suwannee River II. Absorpční pás okolo vlnótu $1\,620\text{ cm}^{-1}$ odpovídá vibraci konjugovaných vazeb v aromatických kruzích a nejvýraznější je u standardu Pahokee Peat. Přítomnost alifatických C--H vazeb ze skupin $\text{--CH}_2\text{--}$ a --CH_3 naznačuje mimo jiné i pík mezi $1\,420\text{--}1\,390\text{ cm}^{-1}$, který připadá právě jejich deformačním vibracím, poměrově nejvyšší je opět u Pahokee Peat. Pás v oblasti vlnótu $1\,250\text{--}1\,200\text{ cm}^{-1}$ odpovídá --COOH skupinám, jež je taktéž nejintenzivnější v případě huminové kyseliny Pahokee Peat. Kromě standardu Leonardite je u všech použitých huminových kyselin patrný absorpční pás připadající valenční symetrické vibraci C--O v primárních alkoholech, a to při vlnótu kolem $1\,050\text{ cm}^{-1}$.

Z výsledků elementární analýzy a infračervené spektroskopie lze usuzovat na rozdílné interakce mezi studovanými standardy huminových kyselin a vybranými organickými barvivy. Usuzuje se tak z důvodu rozdílných hodnot obsahů jednotlivých prvků v jednotlivých huminových kyselinách a různých podob infračervených spekter. Zároveň díky rozdílným strukturám vybraných barviv bude docházet k odlišnému průběhu daných difuzních experimentů.

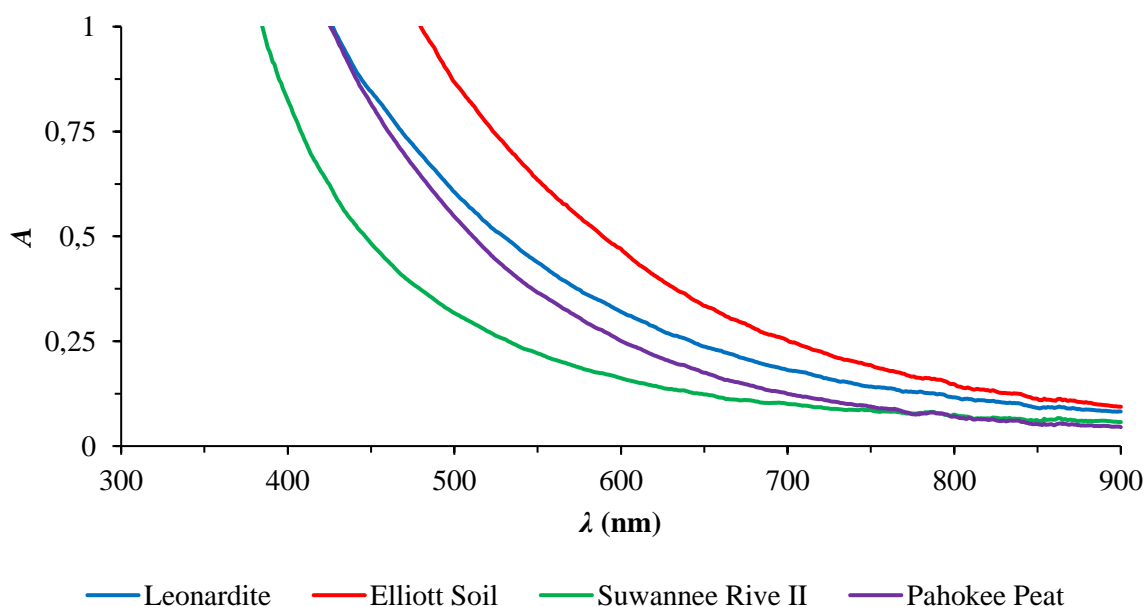
4.2 Kalibrační křivky difuzních roztoků

Po přípravě roztoků určených k difuzi byla proměřena jejich absorpční spektra, a to jak ve vodě, tak v agarosovém gelu. Z absorbancí odečtených v maximu příslušných absorpčních spekter (tj. 665,5 nm pro methylenovou modř a 527 nm pro rhodamin 6G) byly sestaveny kalibrační křivky, jež byly dále použity pro přepočet absorbancí barviva v příslušném médiu na jeho koncentraci.

Měření bylo provedeno pro roztoky methylenové modři a rhodaminu 6G o koncentracích $0,001 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$; $0,0025 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$; $0,005 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$; $0,0075 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$ a $0,01 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$. V případě kalibrační křivky barviva v gelu byly křivky vytvořeny po odečtení absorbance zapříčiněné agarosovým gelem.

4.3 Absorpční spektra huminových kyselin v gelu

Dále byla proměřena absorpční spektra příslušných huminových kyselin v agarosovém gelu. Na obrázku 23 jsou uvedeny absorpční spektra huminových kyselin po odečtení absorbance odpovídající agarosovému gelu.



Obrázek 23: Absorpční spektra jednotlivých huminových kyselin měřených v agarosovém gelu

Z uvedených absorpčních spekter je patrné, že nejvyšší absorbanci při dané vlnové délce má huminová kyselina Elliott Soil a nejnižší huminová kyselina Suwannee River II.

4.4 Kalibrační křivky huminových kyselin v agarosovém gelu

Z důvodu, že při sorpci barviva do gelů s přidavkem huminových kyselin docházelo k uvolňování huminové kyseliny, bylo nutné sestrojit jejich kalibrační křivky. Snižování absorbance zapříčiněné snižováním koncentrace huminové kyseliny bylo patrné z absorpčních spekter barviv v hydrogelech s přidavkem huminových kyselin naměřených v různých polohách daných gelů. V případě stejné koncentrace by se absorpční spektra v jednotlivých místech kyvety překrývala, tedy až na oblast vlnových délek, ve kterých se projevuje absorpce příslušného barviva. Od pozice 20 mm od ústí kyvety, která odpovídá jejímu středu, byla koncentrace huminové kyseliny v gelu konstantní.

Potřeba zjistit skutečnou koncentraci huminové kyseliny v gelu je založena na faktu, že absorbance je aditivní veličina, tedy naměřené absorpční spektrum v desorpční části experimentu je složeno z absorpčního spektra barviva, agarosového gelu a huminové kyseliny. Jelikož se maxima barviv nachází v oblasti, kde je absorpce huminové kyseliny nenulová, je nutno její absorbanci odečíst.

Vzhledem k předpokladu, že při tomto vymývání dochází ke snížení použité koncentrace huminové kyseliny maximálně na polovinu, byly proměřeny gely s 0 hm. %, 0,005 hm. %, 0,006 5 hm. %, 0,008 5 hm. % a 0,01 hm. % obsahem příslušné huminové kyseliny.

Absorpční spektrum huminových kyselin nemá klasické maximum jako je tomu u barviv. Vlnové délky, ze kterých byly odečítány absorbance pro sestrojení kalibračních křivek, byly 425 nm, 527 nm a 665,5 nm. Hodnota 425 nm byla vybrána z důvodu, že se nacházela v oblasti, kde není absorpce gelu huminové kyseliny ovlivněna absorpcí studovaných barviv (420–430 nm a 700–900 nm) a navíc je při ní patrný rozdíl mezi absorpcemi různě koncentrovaných huminových kyselin (rozdíl v oblasti 700–900 nm není tak výrazný). Proto, aby bylo možné odečíst hodnotu absorbance zapříčiněné huminovou kyselinou od absorbance huminového gelu s barvivem, bylo nutné sestrojit další dvě kalibrační řady huminových kyselin v gelu, a to při hodnotách vlnových délek odpovídajících maximu absorpce daného barviva, tedy 527 nm pro rhodamin 6G, resp. 665,5 nm pro methylenovou modř.

4.5 Difuzní experimenty – sorpční část

Nejvíce časově náročnou částí experimentu byla doba, po kterou se barvivo sorbovalo do gelů v kyvetách. Nejkratší doba sorpce, jež lze vyčíst ze shrnutí v tabulce 4, byla v případě agarosového gelu, a to jak u sorpce methylenové modři, tak u sorpce rhodaminu 6G, při které tato doba činila zhruba jeden měsíc. Co se týče nejkratšího času u gelů s přidavkem huminové kyseliny, tak nejnižší čas sorpce byl v případě methylenové modři pozorován u přidavku standardu huminové kyseliny Pahokee Peat s dobou dvou a půl měsíce, u rhodaminu 6G pak v případě přidavku huminové kyseliny Elliot Soil a Suwannee River II, u kterých je v tabulce uvedena doba dva a tři čtvrtě měsíce. Až dvojnásobný čas, tedy pět měsíců, bylo potřeba čekat než se barvivo nasorbuje do kyvet obsahujících agarosový gel s přidavkem huminové kyseliny Leonardite.

Tabulka 4: Doba potřebná k sorpci a maximální naměřená koncentrace barviv v příslušných gelech

barvivo	methylenová modř		rhodamin 6G	
difuzní médium	t_{sorpce} (měsíce)	C_{max} ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)	t_{sorpce} (měsíce)	C_{max} ($\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$)
agarosový gel	1	$2,373\pm 0,019$	1	$3,015\pm 0,031$
+ Leonardite	5	$0,728\pm 0,009$	5	$0,754\pm 0,003$
+ Elliott Soil	2,75	$0,566\pm 0,008$	2,75	$0,522\pm 0,018$
+ Suwannee River II	2,75	$0,873\pm 0,006$	2,75	$0,995\pm 0,006$
+ Pahokee Peat	2,5	$0,793\pm 0,005$	3,25	$0,716\pm 0,008$

Tabulka 4 kromě časů potřebných k úplnému nasorbování barviv do gelů obsahuje údaje o průměrné maximální koncentraci barviva nasorbovaného v příslušném gelu. Předpokládá se, že tato hodnota odpovídá koncentraci volných molekul barviva přítomných v pórech použité gelové matrice. Ta je nejvyšší v kyvetách bez obsahu huminových kyselin, jak bylo očekáváno, jelikož agarosový gel se považuje za inertní vůči barvivům a neměl by tedy nijak interagovat se strukturou barviv. Přidávkem huminové kyseliny do hydrogelové matrice agarosy se hodnota maximální koncentrace volných molekul barviva výrazně snížila. Tento pokles je pravděpodobně způsoben navázáním barviva na strukturu huminové kyseliny, přičemž dochází ke změně struktury barviva, a tedy i jeho absorbance. K největšímu poklesu došlo právě v případě přidavku huminové kyseliny Elliott Soil, kde se u obou barviv tato hodnota pohybuje nad $0,5 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$. Předpokládá se tedy, že tato huminová kyselina přítomná v gelové matrici sorbuje největší množství barviva. Nejvyšší naměřená průměrná koncentrace volných molekul barviva v gelu byla u obou barviv v rámci gelů s přidávkem huminových kyselin patrná u standardu Suwannee River II, což vede k předpokladu, že tato kyselina naopak sorbuje nejmenší množství barviva. Nutno podotknout, že sorpce probíhala u všech experimentů za stejných podmínek, tedy za laboratorní teploty s koncentrací barviv v nádobě rovnou $0,001 \text{ g}\cdot\text{dm}^{-3}$, tj. $1 \text{ g}\cdot\text{m}^{-3}$.

Jak již bylo uvedeno v kapitole 4.4, během sorpce barviv do gelů s huminovými kyselinami docházelo k vyplavování huminových kyselin. K tomuto závěru se došlo z poklesu zbarvení gelové matrice u ústí kyvety. Vzhledem k tomu, že jsou huminové kyseliny polydisperzní směsí molekul, předpokládá se, že se přednostně vyplavovaly frakce s nižší molekulovou hmotností, čímž se mohl měnit chemický i fyzikálně-chemický charakter huminových látek v gelu.

4.6 Difuzní experimenty – desorpční část

Transportní procesy v hydrogelech, jejichž studium je cílem této diplomové práce, se posuzují na základě difuzních koeficientů použitých difuzních sond. K výpočtu těchto koeficientů bylo zapotřebí znát prostorové rozložení koncentrace barviva v kyvetě, respektive gelu.

Absorpční spektra v různých polohách jednotlivých gelů byla zaznamenávána pomocí UV–VIS spektrofotometru ve 24 hodinových intervalech, tedy v časech 0, 24, 48, 62, 96 hodin a poté ještě v čase 168 hodin od počátku desorpce. Naměřená data byla nejprve příkazem v programu Origin Pro 7.5 vyhlazena a takto upravená data byla dále zpracovávána v programu Microsoft Office Excel. Naměřená absorpční spektra jsou výsledkem skládání absorpčních spekter všech komponent gelové matrice, tj. samotného agarosového gelu, huminové kyseliny a barviva. Proto bylo pro určení absorbance barviva nutno další komponenty odečíst.

Nejdříve byla odečtena absorbance agarosového gelu, jehož koncentrace je v čase i v poloze kyvety neměnná. Pro odečtení absorbance zapříčiněné huminovou kyselinou bylo nejprve nutné zjistit její koncentraci (z absorbance při vlnové délce 425 nm, kde barvivo neabsorbuje) a poté z této koncentrace zjistit absorbanci při vlnové délce, kde má barvivo své absorpční maximum. Postupovalo se tak, že z absorbance při vlnové délce 425 nm byla pomocí kalibrační křivky příslušné huminové kyseliny převedena na koncentraci. Tato hodnota byla poté dosazena do rovnice kalibrační křivky dané huminové kyseliny sestrojené při vlnové délce 527 nm v případě, že byl součástí gelové matrice rhodamin 6G, respektive 665,5 nm v případě methylenové modři, přičemž byla zjištěna hodnota absorbance odpovídající pouze huminové kyselině. Po odečtení této absorbance od naměřené absorbance, ze které již byla odečtena absorbance agarosového gelu byla zjištěna absorbance samotného barviva v daném gelu, která byla převedena na koncentraci pomocí kalibrační křivky příslušného barviva v gelu.

Po zjištění prostorového rozložení koncentrace se přistoupilo k vyhodnocení difuzních koeficientů barviv. Vzhledem k tomu, že se difuze v kyvetách považuje za difuzi neustálenou (koncentrační profil se s časem mění) byly aplikovány modely popsané v kapitole 2.4.4. Konkrétně byly vyzkoušeny modely difuze z konstantního zdroje do nekonečného média a difuze v rovinné desce. Další dva modely jsou k aplikaci na naměřená data nevhodná, jelikož zdroj barviva není plošný jako je tomu u difuze z okamžitého plošného zdroje, nýbrž v objemu kyvety. Difuze v páru nekonečných médií je taktéž nevhodná, protože byl zvolen postup, kde barvivo z gelu putuje do vody, nikoliv do jiné kyvety s gelem.

Difuzní koeficienty byly tedy vypočteny z upraveného tvaru rovnice 21 a z rovnice 25 uvedených v teoretické části v kapitole 2.4.4. Rovnice 21 byla upravena do následující podoby:

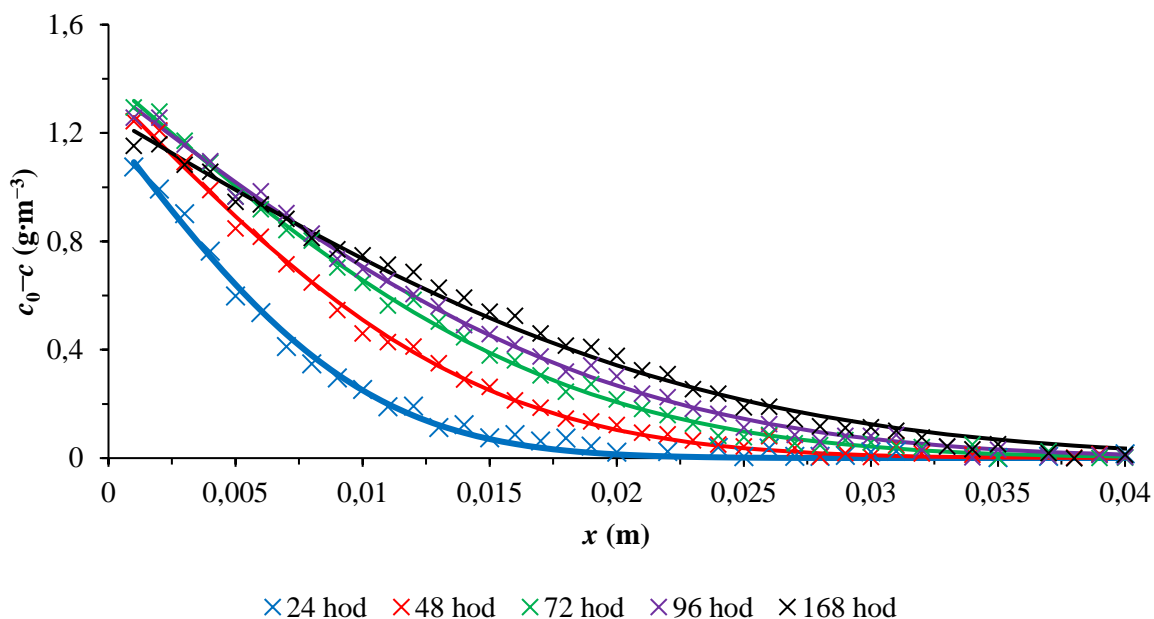
$$c_0 - c_i = c_0 \operatorname{erfc} \frac{x}{2\sqrt{D_i t}} . \quad (34)$$

V obou případech byl difuzní koeficient vypočten pomocí funkce Řešitel, jenž je součástí sady Microsoft Office Excel. Řešitel vypočetl optimální hodnoty proměnných (v tomto případě difuzního koeficientu a hodnoty c_0) na základě porovnávání dvou sad dat (naměřená data a data vypočtená přes modelový vzorec). Hodnoty proměnných upravoval tak dlouho, dokud nenašel takové, při kterých jsou modelová data nejbližší datům naměřeným.

4.6.1 Difuze v agarosovém gelu

Prostorové rozložení koncentrací barviv v agarosovém hydrogelu bez přídavku huminové kyseliny kopírovalo funkci koncentrace pro difuzi z konstantního zdroje do nekonečného média (konkrétně funkci uvedenou v rovnici 34). K nejlepšímu proložení koncentrace barviva v gelu docházelo při nižších difuzních časech, jak je možno vidět na obrázku 24. Nejpresnější difuzní koeficienty tedy poskytují data naměřená v časech 24, 48, 72 a 96 hodin. Data naměřená v čase 168 hodin se nepovažují za přesná, jelikož v tomto čase již docházelo k poklesu koncentrace barviva i na konci kyvety, čímž byla porušena podmínka nekonečnosti gelového média, pro kterou byl odvozen použitý matematický model. Navíc by všechny křivky měly po prodloužení vycházet ze stejného bodu na ose y , což u křivky v čase 168 hodin není splněno. Hodnoty difuzních koeficientů jednotlivých barviv byly i přes tuto skutečnost vypočteny pro všechny

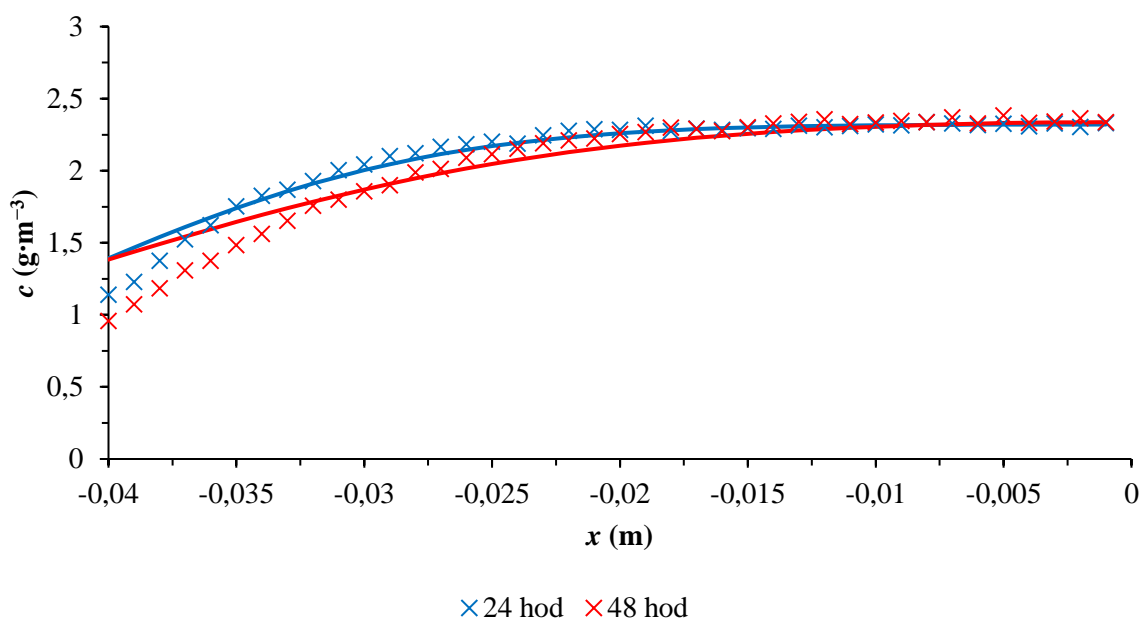
difuzní časy i všechny kyvety. Hodnoty difuzních koeficientů v rámci daného časového údaje byly zprůměrovány a byly vypočteny jejich směrodatné odchylky. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 5.



Obrázek 24: Příklad proložení naměřených dat funkcí pro difuzi z konstantního zdroje do nekonečného média difuze methylenové modři v agarosovém hydrogelu v různých časech

Dále byla naměřená data udávající rozložení koncentrace jednotlivých barviv v agarosovém hydrogelu prokládána modelovou funkcí pro difuzi v rovinné desce. Hodnoty difuzních koeficientů vypočtených touto funkcí byly opět v rámci daného časového údaje zprůměrovány a byly u nich vypočteny směrodatné odchylky. Výsledky jsou taktéž uvedeny v tabulce 5.

Proložení dat funkcí tímto modelem bylo ve všech měřených časech nepřesné, jak je patrné z obrázku 25, na kterém jsou pro větší přehlednost uvedeny pouze časy 24 a 48 hodin. Modelová křivka v čase 24 hodin se rozcházela s naměřenými daty převážně v oblasti blízko ústí kyvety, konkrétně pro x od $-0,04$ do $-0,035$ m, v časech 48 hodin a výš již byly rozdíly mezi modelovou křivkou a naměřenými daty velice velké, proto difuzní koeficienty zjištěny pomocí tohoto modelu v daných časech měření nejsou relevantní.



Obrázek 25: Příklad proložení naměřených dat funkcí pro difuzi z rovinné desky difuze methylenové modři v agarosovém hydrogelu v různých časech

Níže uvedená tabulka 5 je shrnutím průměrných hodnot difuzních koeficientů barviv v agarosovém hydrogelu zjištěných oběma modely. Jsou zde uvedeny veškeré vypočtené hodnoty průměrných difuzních koeficientů studovaných barviv, tedy i v časech, kde nebylo možné dokonale proložit naměřená data. Tyto hodnoty jsou pak označeny hvězdičkou (*), aby je bylo možné odlišit od těch korektně proložených.

Tabulka 5: Hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém hydrogelu stanovených použitím modelu difuze z konstantního zdroje do nekonečného média a modelu difuze v rovinné desce

barvivo	methylenová modř		rhodamin 6G	
t_{desorpce} (hod)	$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$		$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$	
	konstantní zdroj	rovinná deska	konstantní zdroj	rovinná deska
24	$(3,76\pm 0,11)\cdot 10^{-10}$	$(7,16\pm 0,62)\cdot 10^{-10} *$	$(3,02\pm 0,05)\cdot 10^{-10}$	$(5,14\pm 0,56)\cdot 10^{-10} *$
48	$(3,84\pm 0,11)\cdot 10^{-10}$	$(7,36\pm 0,33)\cdot 10^{-10} *$	$(3,07\pm 0,06)\cdot 10^{-10}$	$(5,69\pm 0,52)\cdot 10^{-10} *$
72	$(3,80\pm 0,14)\cdot 10^{-10}$	$(6,25\pm 0,60)\cdot 10^{-10} *$	$(3,18\pm 0,06)\cdot 10^{-10}$	$(5,56\pm 0,34)\cdot 10^{-10} *$
96	$(3,53\pm 0,18)\cdot 10^{-10}$	$(5,45\pm 0,07)\cdot 10^{-10} *$	$(3,10\pm 0,12)\cdot 10^{-10}$	$(5,06\pm 0,12)\cdot 10^{-10} *$
168	$(2,58\pm 0,16)\cdot 10^{-10} *$	$(3,39\pm 0,06)\cdot 10^{-10} *$	$(2,97\pm 0,17)\cdot 10^{-10} *$	$(3,33\pm 0,03)\cdot 10^{-10} *$

Difuzní koeficienty příslušného barviva stanoveny pomocí modelu konstantního zdroje jsou si v časech 24–96 hodin velice podobné. Poněkud odlišnější hodnota v čase 168 hodin je způsobena nekorespondujícím proložením dat modelovou křivkou, jelikož je naměřené rozložení koncentrace barviva v gelu odlišné oproti teoretickému předpokladu.

V případě aplikování funkce pro metodu difuze v rovinné desce na naměřená data jsou u hodnot stanovených difuzních koeficientů v různých časech pro dané barvivo patrné větší rozdíly. Tato funkce je tedy pro stanovení difuzních koeficientů barviv v agarosovém gelu v těchto časových intervalech nevhodná. Hlavním důvodem je nesprávné proložení naměřených dat modelovou křivkou.

I při porovnání hodnot difuzních koeficientů zjištěných jednotlivými modelovými funkcemi zjistíme, že hodnoty vzájemně nekorespondují. Je mezi nimi patrný téměř dvounásobný rozdíl. Z toho plyne, že jako pravděpodobně správné hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém hydrogelu se jeví hodnoty stanovené s využitím modelu difuze z konstantního zdroje v časech 24–96 hodin.

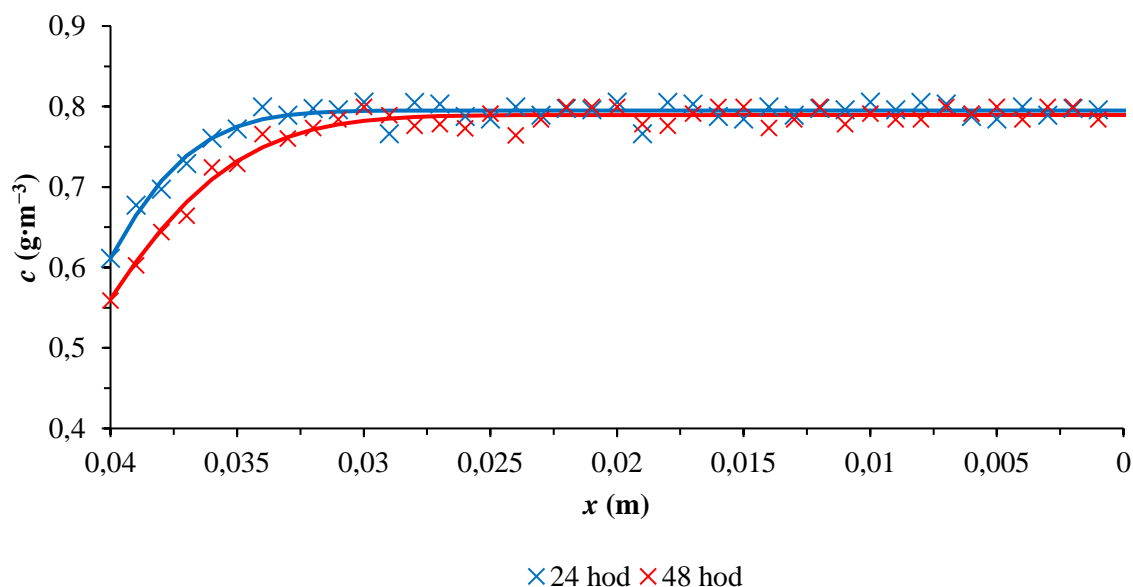
Když porovnáme jednotlivá barviva mezi sebou, tak vidíme, že methylenová modř v agarosovém hydrogelu vykazuje vyšší difuzivitu než rhodamin 6G. To je pravděpodobně způsobeno jeho nižší molekulovou hmotností. Konkrétní hodnoty molekulových hmotností těchto barviv jsou $319,85 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ pro methylenovou modř [10] a $479,02 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ pro rhodamin 6G [13]. Obecně platí, že se molekuly s nižší molekulovou hmotností pohybují rychleji než ty s vyšší molekulovou hmotností.

4.6.2 Difuze v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Leonardite

V další sadě experimentů byl pozorován vliv přidavku huminových kyselin do matrice agarosových hydrogelů na difuzní koeficienty studovaných barviv. Hodnoty difuzních koeficientů byly stejně jako v předešlém případě vyhodnoceny dvěma způsoby.

Proložení naměřených dat funkcí popisující modelové rozdělení koncentrací pro metodu konstantního zdroje bylo i v tomto typu gelu nejpresnější v časech 24–96 hodin.

V případě rhodaminu 6G bylo proložení dat funkcí pro difuzi v rovinné desce vhodné pouze v čase 24 hodin, v ostatních časech docházelo k nedokonalému proložení a v čase 168 hodin Řešitel nedokázal naměřená data proložit vůbec. Ovšem v případě methylenové modři se tato modelová funkce shodovala s naměřeným koncentračním rozložením ve všech měřených časech (kromě času 168 hodin), což je oproti experimentu s agarosovým hydrogelem bez přidavku huminové kyseliny odlišné. Příklad proložení při časech 24 a 48 hodin je uveden na obrázku 26.



Obrázek 26: Příklad proložení naměřených dat funkcí pro difuzi z rovinné desky difuze methylenové modři v agarosovém hydrogelu s přidavkem huminové kyseliny Leonardite v různých časech

Tabulka 6: Hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém hydrogelu s přidavkem huminové kyseliny Leonardite stanovených použitím modelu difuze z konstantního zdroje do nekonečného média a modelu difuze v rovinné desce

barvivo	methylenová modř		rhodamin 6G	
t_{desorpce} (hod)	$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$		$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$	
	konstantní zdroj	rovinná deska	konstantní zdroj	rovinná deska
24	$(9,58\pm0,92)\cdot10^{-11}$	$(1,01\pm0,11)\cdot10^{-10}$	$(1,20\pm0,16)\cdot10^{-10}$	$(1,18\pm0,37)\cdot10^{-10}$
48	$(1,03\pm0,09)\cdot10^{-10}$	$(8,45\pm0,50)\cdot10^{-11}$	$(1,40\pm0,12)\cdot10^{-10}$	$(1,09\pm0,35)\cdot10^{-10} *$
72	$(1,06\pm0,16)\cdot10^{-10}$	$(7,34\pm1,10)\cdot10^{-11}$	$(1,38\pm0,23)\cdot10^{-10}$	$(9,16\pm3,68)\cdot10^{-11} *$
96	$(1,05\pm0,13)\cdot10^{-10}$	$(7,66\pm1,42)\cdot10^{-11}$	$(1,49\pm0,17)\cdot10^{-10}$	$(7,07\pm1,32)\cdot10^{-11} *$
168	$(8,87\pm1,75)\cdot10^{-11}$	$(5,15\pm0,96)\cdot10^{-11} *$	$(1,33\pm0,11)\cdot10^{-10}$	—

Tabulka 6 shrnuje hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Leonardite. U obou barviv se hodnoty stanovené pomocí vztahu pro difuzi z konstantního zdroje ve všech časech měření nijak významně neliší.

Hodnoty difuzních koeficientů methylenové modři zjištěných modelem difuze v rovinné desce jsou v různých časech pro dané barvivo od sebe více odlišné, než tomu bylo v případě modelu difuze z konstantního zdroje. Hodnoty stanovené oběma modely si navzájem korespondují.

Z tabulky dále vyplývá, že o něco nižší difuzivitu vykazuje methylenová modř. Lze tedy usuzovat, že z této dvojice studovaných barviv interaguje huminová kyselina Leonardite více právě s molekulami methylenové modři.

4.6.3 Difuze v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Elliott Soil

Další huminovou kyselinou, jejíž vliv na difuzní koeficient barviv v agarosových hydrogelech byl sledován, byl standard huminové kyseliny Elliott Soil. Hodnoty difuzních koeficientů byly opět vyhodnoceny aplikací dvou dříve zmiňovaných modelů.

Model difuze z konstantního zdroje se i zde jevil jako nejvhodnější. Proložení naměřených dat funkcí koncentrace popsanou tímto modelem bylo správné u všech měřených časů u obou barviv. Co se týče druhého modelu, tedy modelu difuze v rovinné desce, tak u něj nedocházelo ke shodě experimentálních dat ani v jenom případě barviva.

Tabulka 7: Hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém hydrogelu s přidavkem huminové kyseliny Elliott Soil stanovených použitím modelu difuze z konstantního zdroje do nekonečného média a modelu difuze v rovinné desce

barvivo	methylenová modř		rhodamin 6G	
t_{desorpce} (hod)	$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$		$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$	
	konstantní zdroj	rovinná deska	konstantní zdroj	rovinná deska
24	$(1,56\pm0,16)\cdot10^{-10}$	$(4,76\pm1,23)\cdot10^{-10} *$	$(1,97\pm0,28)\cdot10^{-10}$	$(6,43\pm1,23)\cdot10^{-10} *$
48	$(1,67\pm0,32)\cdot10^{-10}$	$(4,28\pm0,75)\cdot10^{-10} *$	$(2,11\pm0,39)\cdot10^{-10}$	$(5,88\pm0,71)\cdot10^{-10} *$
72	$(1,95\pm0,21)\cdot10^{-10}$	$(3,98\pm0,69)\cdot10^{-10} *$	$(2,24\pm0,24)\cdot10^{-10}$	$(5,34\pm0,64)\cdot10^{-10} *$
96	$(1,78\pm0,18)\cdot10^{-10}$	$(3,42\pm0,35)\cdot10^{-10} *$	$(2,24\pm0,30)\cdot10^{-10}$	$(4,63\pm0,26)\cdot10^{-10} *$
168	$(1,70\pm0,13)\cdot10^{-10}$	$(3,17\pm0,76)\cdot10^{-10} *$	$(2,02\pm0,11)\cdot10^{-10}$	$(3,15\pm0,08)\cdot10^{-10} *$

Veškeré vypočtené hodnoty difuzních koeficientů jsou shrnuty v tabulce 7. Opět jako v případě hydrogelové matrice s přidavkem standardu Leonardite, je i zde rozdíl mezi hodnotami difuzních koeficientů daných barviv v jednotlivých časech vypočtených pomocí vztahu pro difuzi z konstantního zdroje téměř zanedbatelný.

Jak bylo uvedeno výše, tak na experimentální data pro tento typ hydrogelu nebylo vhodné použít model difuze v rovinné desce, jelikož experimentální data neodpovídala datům popsaným tímto modelem.

Dále lze z tohoto souhrnu vyčíst, že difuzivita obou barviv není významně odlišná, ovšem o něco nižší difuzivitu vykazuje opět methylenová modř. I v tomto případě lze tedy usuzovat, že interakce huminové kyseliny Elliott Soil, jež zpomalují difuzi barviva, jsou silnější při styku s molekulami methylenové modři oproti rhodaminu 6G.

4.6.4 Difuze v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Suwannee River II

Standard huminové kyseliny Suwannee River II byl taktéž podroben difuzním experimentům zaměřeným na studium vlivu přítomnosti huminové kyseliny na hodnotu difuzního koeficientu vybraných barviv. Tyto hodnoty, jež se stanovovaly pomocí stejných modelů použitých v předchozích případech, jsou zaznamenány v tabulce 8.

Nejdokonalějšího proložení naměřených dat bylo dosaženo použitím upravené modelové křivky charakteristické pro difuzi z konstantního zdroje. Pouze v případě dat naměřených v čase 168 hodin u difuze rhodaminu 6G v popisovaném médiu nedošlo k úplně přesnému proložení. Použití modelové funkce popsané pro difuzi v rovinné desce se opět ukázalo jako nevhodné.

Tabulka 8: Hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém hydrogelu s přidavkem huminové kyseliny Suwannee River II stanovených použitím modelu difuze z konstantního zdroje do nekonečného média a modelu difuze v rovinné desce

barvivo	methylenová modř		rhodamin 6G	
t_{desorpce} (hod)	$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$		$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$	
	konstantní zdroj	rovinná deska	konstantní zdroj	rovinná deska
24	$(2,21\pm 0,17)\cdot 10^{-10}$	$(4,00\pm 0,30)\cdot 10^{-10} *$	$(3,38\pm 0,47)\cdot 10^{-10}$	$(4,17\pm 0,68)\cdot 10^{-10} *$
48	$(2,50\pm 0,28)\cdot 10^{-10}$	$(4,08\pm 0,13)\cdot 10^{-10} *$	$(3,53\pm 0,48)\cdot 10^{-10}$	$(4,48\pm 0,65)\cdot 10^{-10} *$
72	$(2,50\pm 0,21)\cdot 10^{-10}$	$(3,84\pm 0,11)\cdot 10^{-10} *$	$(3,27\pm 0,28)\cdot 10^{-10}$	$(4,28\pm 0,41)\cdot 10^{-10} *$
96	$(2,73\pm 0,25)\cdot 10^{-10}$	$(3,74\pm 0,10)\cdot 10^{-10} *$	$(3,05\pm 0,09)\cdot 10^{-10}$	$(4,10\pm 0,35)\cdot 10^{-10} *$
168	$(2,44\pm 0,19)\cdot 10^{-10}$	$(2,90\pm 0,12)\cdot 10^{-10} *$	$(2,54\pm 0,33)\cdot 10^{-10} *$	$(3,00\pm 0,11)\cdot 10^{-10} *$

Difuzní koeficienty stanovené funkcí popisující difuzi z konstantního zdroje se v případě agarosového gelu s přidavkem huminové kyseliny Suwannee River II v různých naměřených časech téměř shodují. Výjimku tvoří hodnota stanovená pro difuzi rhodaminu 6G z experimentálních dat v čase 168 hodin, která se více odlišuje od ostatních.

Ohledně hodnot difuzních koeficientů zjištěných pomocí vztahu pro difuzi v rovinné desce lze říci jen to, že experimentální data nekopírovala trend modelové křivky, a proto takto zjištěné hodnoty difuzních koeficientů neodpovídají těm, které byly stanoveny použitím modelu pro difuzi z konstantního zdroje.

Přitažlivé interakce huminové kyseliny Suwannee River II jsou patrně výraznější ve spojitosti s molekulami methylenové modři, jejíž difuzní koeficient je nižší než u rhodaminu 6G.

4.6.5 Difuze v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Pahokee Peat

Posledním studovaným difuzním médiem byl agarosový gel s přidavkem huminové kyseliny Pahokee Peat. I v tomto případě byly sledovány změny koncentračního rozložení dvou vybraných organických barviv sorbovaných v popsaném gelu v různých časech desorpční části experimentu.

Hodnoty difuzních koeficientů byly pro úplnost stejně jako u předešlých modifikací gelu stanovovány pomocí dvou modelů. Také zde se došlo ke zjištění, že experimentální data byla ve shodě s modelovou funkcí pro difuzi z konstantního zdroje. Modelová křivka pro difuzi v rovinné desce ani v tomto případě kompletně neproložila naměřená data, nicméně byly hodnoty difuzních koeficientů stanoveny i touto metodou a souhrn všech difuzních koeficientů methylenové modři a rhodaminu 6G v daném difuzním médiu je zobrazen v následující tabulce 9.

Tabulka 9: Hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém hydrogelu s přidavkem huminové kyseliny Pahokee Peat stanovených použitím modelu difuze z konstantního zdroje do nekonečného média a modelu difuze v rovinné desce

barvivo	methylenová modř		rhodamin 6G	
t_{desorpce} (hod)	$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$		$D \text{ (m}^2\cdot\text{s}^{-1}\text{)}$	
	konstantní zdroj	rovinná deska	konstantní zdroj	rovinná deska
24	$(1,91\pm0,58)\cdot10^{-10}$	$(2,68\pm0,14)\cdot10^{-10} *$	$(2,22\pm0,16)\cdot10^{-10}$	$(4,25\pm0,55)\cdot10^{-10} *$
48	$(1,78\pm0,41)\cdot10^{-10}$	$(2,19\pm0,25)\cdot10^{-10} *$	$(2,34\pm0,25)\cdot10^{-10}$	$(4,11\pm0,40)\cdot10^{-10} *$
72	$(2,02\pm0,31)\cdot10^{-10}$	$(2,28\pm0,12)\cdot10^{-10} *$	$(2,26\pm0,17)\cdot10^{-10}$	$(3,78\pm0,23)\cdot10^{-10} *$
96	$(2,17\pm0,27)\cdot10^{-10}$	$(2,32\pm0,17)\cdot10^{-10} *$	$(2,33\pm0,10)\cdot10^{-10}$	$(3,73\pm0,14)\cdot10^{-10} *$
168	$(1,99\pm0,22)\cdot10^{-10}$	$(2,21\pm0,17)\cdot10^{-10} *$	$(2,14\pm0,20)\cdot10^{-10}$	$(2,94\pm0,10)\cdot10^{-10} *$

Hodnoty difuzních koeficientů stanovených v různých časech ze vztahu pro difuzi z konstantního zdroje jsou si v rámci daného barviva blízké, tedy nedochází k významné změně hodnoty difuzního koeficientu s časem.

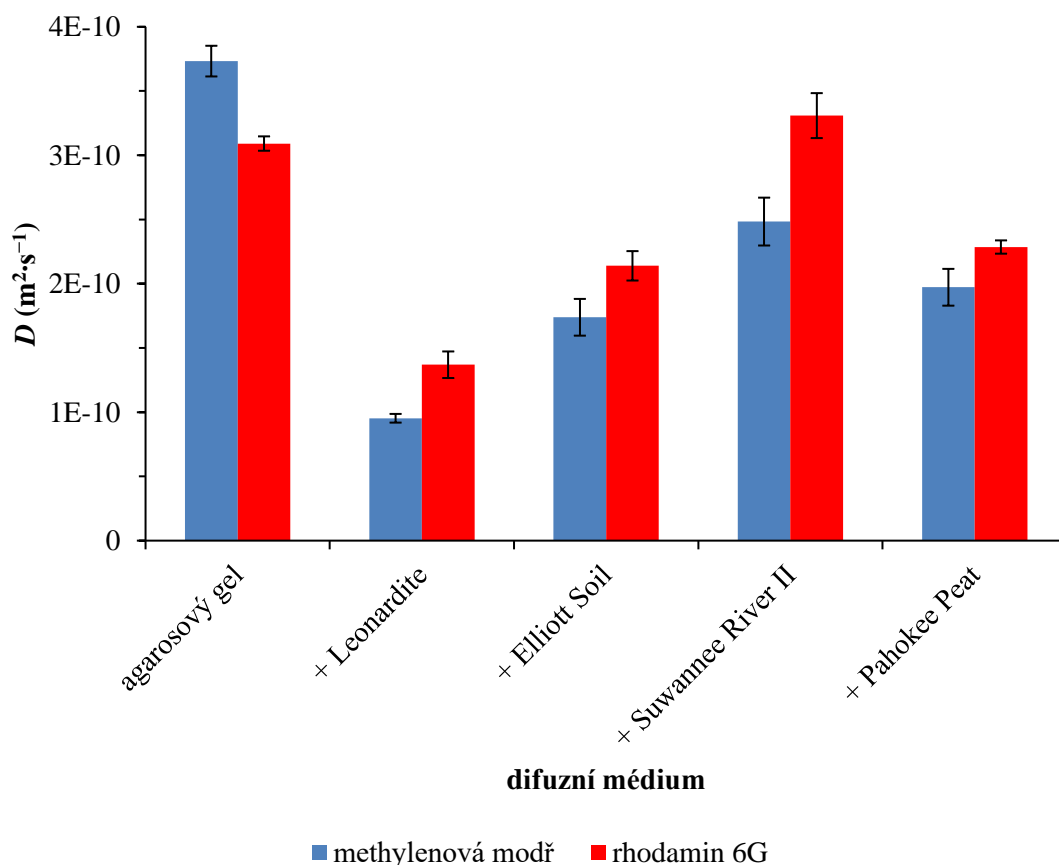
Teoretickým modelem koncentračního rozložení barviva v kyvetě, popisujícím difuzi v rovinné desce, nebylo možné proložit experimentální data tak, aby se shodovala. Proto jsou tyto hodnoty označeny hvězdičkou a předpokládá se, že správné hodnoty difuzních koeficientů, jež skutečně popisují provedený experiment, jsou ty, které byly vypočteny aplikováním modelu difuze z konstantního zdroje.

Srovnáním difuzních koeficientů jednotlivých barviv zjistíme, že jsou jejich hodnoty téměř totožné. To znamená, že se gelem pohybují téměř stejnou rychlostí. Není tedy možné tvrdit, že je jedno barvivo gelem zadržováno více a druhé méně.

4.6.6 Porovnání výsledků difuzních experimentů v různých typech gelů

Vzhledem ke skutečnosti, že model difuze v rovinné desce kopíroval data pouze v případě difuze methylenové modři v agarosovém hydrogelu s přidavkem standardu huminové kyseliny Leonardite, tak pro porovnání vlivu všech zkoumaných kyselin na difuzi barviv byly použity pouze hodnoty zjištěny použitím modelu difuze z konstantního zdroje.

Přidavek jednotlivých huminových kyselin do hydrogelových matric agarosy má na difuzivitu barviv v některých případech menší a v jiných značný vliv. Hodnoty jsou pro lepší názornost uvedeny níže na obrázku 27. Obecně lze tvrdit, že přidavek huminové kyseliny do agarosového gelu způsobil snížení difuzního koeficientu studovaných barviv, výjimku tvoří hodnota difuzního koeficientu rhodaminu 6G v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Suwannee River II. Difuzní koeficient v případě přidavku huminové kyseliny klesá v tomto pořadí: Suwannee River II > Pahokee Peat > Elliott Soil > Leonardite.



Obrázek 27: Difuzní koeficienty barviv v různých difuzních médiích

Největší pokles byl zaznamenán u obou barviv po přidavku standardu huminové kyseliny Leonardite, tedy huminové kyseliny extrahované z oxidovaného uhlí. Z výsledků elementární analýzy uvedené v kapitole 4.1.1 je patrné, že právě tento standard huminové kyseliny má největší elementární poměr C/H a C/O. To znamená že právě tato kyselina obsahuje nejvíce nenasycených vazeb a aromatických cyklů a nejméně kyslíkatých funkčních skupin (např. $-\text{COOH}$). Jak bylo zmíněno v kapitolách věnujících se popisu vybraných barviv (kapitoly 2.2.1 a 2.2.2), obě barviva v roztoku vytváří kladný náboj. Tento náboj s největší pravděpodobností reaguje se záporně nabitými skupinami přítomnými na huminovém skeletu. Základ struktur

obou barviv tvoří aromatická jádra, ta jsou schopna interagovat s aromatickými jádry huminových kyselin. V molekulách barviv se mimo jiné nacházejí i akceptory vodíkových vazeb. Huminové kyseliny jsou na druhou stranu tak strukturně složité látky, že není možné přesně říci, které skupiny či části se konkrétně zapojují do interakcí.

U agarosového hydrogelu s přidavkem huminové kyseliny Leonardite došlo k vyššímu poklesu v případě methylenové modři, tzn., že huminová kyselina Leonardite obsahuje ve svých strukturách skupiny, které snižují difuzivitu tohoto barviva významněji, než je tomu u rhodaminu 6G.

Nejmenší pokles hodnoty difuzního koeficientu vykazuje methylenová modř v agarosovém gelu s přidavkem standardu huminové kyseliny Suwannee River II, jež je zástupcem huminových kyselin izolovaných z vodních zdrojů. Tato huminová kyselina podle výsledků elementární analýzy obsahuje nejmenší počet aromatických struktur a největší počet kyslíkatých funkčních skupin. Její struktura je tedy odlišná od struktury standardu Leonardite, což se projevilo i na difuzních koeficientech barviv v gelu s jejím přidavkem. V případě hodnoty difuzního koeficientu rhodaminu 6G nelze u tohoto difuzního média hovořit o poklesu, jelikož jsou s hodnotou stanovenou v čistém agarosovém gelu stejné (v rámci odchylky). Přítomnost huminové kyseliny Suwannee River II nemá v tomto případě měřitelný vliv na difuzivitu tohoto barviva v hydrogelu.

4.6.7 Porovnání výsledků difuzních experimentů této práce s výsledky difuzních experimentů bakalářské práce

V bakalářské práci [54] jsem zkoumala difuzi stejných organických barviv skrz agarosový hydrogel s a bez přidavku huminové kyseliny Leonardite metodou difuzních cel, tedy ustálenou difuzí popsanou v kapitole 2.4.3. Hydrogely byly připravovány totožným způsobem i se stejnou koncentrací agarosu a huminové kyseliny jako v této práci, ovšem s tím rozdílem, že místo do kyvet byly ohřáté roztoky gelu nalévány do kruhových forem, které byly poté umístěny mezi dvě difuzní cely. Koncentrace použitých barviv byla desetkrát vyšší, tedy $0,01 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Ke stanovení difuzních koeficientů ustálenou difuzí použitou v bakalářské práci bylo potřeba proměřovat absorbance ve zdrojové i v přijímové cele, a to pomocí UV–VIS spektrofotometru OceanOptics. Absorpční spektra byla snímána pomocí softwaru SpectraSuite v intervalu 30 minut po dobu 24 hodin. Naměřená data byla vyhlazena programem Origin Pro 7.5. a z takto upravených dat byly absorbance odečtené při vlnových délkách odpovídajících maximům absorpčních spekter použitých barviv přepočtena na koncentrace pomocí kalibračních křivek. [54]

Metodou ustálené difuze v difuzních celách bylo možné stanovit dva difuzní koeficienty každého barviva. První, tzv. zdánlivý difuzní koeficient D_L , který v sobě zohledňuje specifické interakce mezi barvivem a porézní maticí, se stanovuje z času průchodu barviva skrz tuto přepážku t_L pomocí rovnice:

$$D_L = \frac{l^2}{6t_L}, \quad (35)$$

ve které vystupuje i tloušťka gelu l . [54]

Druhým difuzním koeficientem je efektivní difuzní koeficient D_E . Ten se stanovuje pomocí směrnice lineární části závislosti koncentrace barviva v příjmové cele na čase následujícím vztahem:

$$D_E = \frac{1}{\varepsilon} \left(\frac{dn}{dt} \right) \cdot \left(\frac{l}{\Delta C_{10}} \right), \quad (36)$$

kde $\frac{dn}{dt}$ představuje směrnici lineární části zmíněné závislosti, l je tloušťka gelu a ΔC_{10} je hodnota rozdílu koncentrace barviva mezi celami. Dále v této rovnici figuruje parametr ε , jenž představuje tzv. rozdělovací koeficient. Ten je roven poměru koncentrací barviva v hydrogelu a v roztoku a charakterizuje tak skokovou změnu koncentrace na mezifázovém rozhraní hydrogel/roztok. [54]

Výsledné hodnoty difuzních koeficientů zjištěných pomocí experimentů prováděných v difuzních celách jsou společně s výsledky difuze v kyvetách uvedeny v následujících tabulkách. Tabulka 10 obsahuje hodnoty pro čistý agarosový hydrogel v tabulce 11 jsou pak uvedeny hodnoty pro agarosový hydrogel s přidavkem huminové kyseliny Leonardite.

Tabulka 10: Hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém gelu stanovené metodou difuze v difuzních celách [54] a metodou difuze v kyvetách (model difuze z konstantního zdroje do nekonečného média)

barvivo	methylenová modř		rhodamin 6G	
	difuzní cely	konstantní zdroj	difuzní cely	konstantní zdroj
D_L ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	$(4,21 \pm 0,21) \cdot 10^{-10}$	—	$(3,09 \pm 0,15) \cdot 10^{-10}$	—
D_E ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	$(3,68 \pm 0,08) \cdot 10^{-10}$	$(3,76 \pm 0,10) \cdot 10^{-10}$	$(2,66 \pm 0,13) \cdot 10^{-10}$	$(3,02 \pm 0,05) \cdot 10^{-10}$

Rozdílné hodnoty difuzních koeficientů D_L a D_E , jež jsou výsledkem měření v rámci bakalářské práce, jsou důkazem toho, že mezi barvivem a agarosovým hydrogelem existují nějaké mezimolekulové interakce, tedy že agarosový gel není vůči barvivům zcela inertní, jak se předpokládalo. Vyšší hodnoty difuzních koeficientů u methylenové modři ukazují na to, že právě methylenová modř byla hydrogelem zadržována méně, což by mohlo být vysvětleno jeho nižší molekulovou hmotností oproti rhodaminu 6G.

Hodnoty difuzních koeficientů zjištěných metodou difuze v difuzních celách a metodou difuze v kyvetách jsou si v případě methylenové modři téměř totožná. V případě rhodaminu 6G jsou si taktéž velice podobná. Což nasvědčuje tomu, že hodnoty difuzních koeficientů nejsou příliš koncentračně závislé, protože obsah barviva v hydrogelech u metody difuzních cel a metody použité v této práci jsou rozdílné.

Tabulka 11: Hodnoty difuzních koeficientů barviv v agarosovém gelu s přidavkem huminové kyseliny Leonardite stanovené metodou difuze v difuzních celách [54] a metodou difuze v kyvetách (model difuze z konstantního zdroje do nekonečného média)

barvivo	methylenová modř		rhodamin 6G	
	difuzní cely	konstantní zdroj	difuzní cely	konstantní zdroj
D_L ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	$(1,570 \pm 0,004) \cdot 10^{-10}$	—	$(7,85 \pm 1,24) \cdot 10^{-10}$	—
D_E ($\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}$)	$(1,05 \pm 0,21) \cdot 10^{-11}$	$(9,58 \pm 0,92) \cdot 10^{-11}$	$(5,52 \pm 0,45) \cdot 10^{-11}$	$(1,20 \pm 0,16) \cdot 10^{-10}$

I v případě hydrogelové matrice tvořené agarosou s přidavkem huminové kyseliny Leonardite byly hodnoty difuzních koeficientů D_L a D_E daného barviva rozdílné, dokonce o jeden řád. To opět nasvědčovalo tomu, že mezi huminovou kyselinou obsaženou v tomto gelu a daným barvivem dochází k interakcím, a to významnějším než v předchozím případě.

Porovnáním těchto dvou barviv mezi sebou bylo zjištěno, že vyšší difuzní koeficient je patrný u rhodaminu 6G, tedy opačně, než tomu bylo u agarosového gelu bez huminové kyseliny.

Srovnáním hodnot difuzních koeficientů daného barviva v agarosovém hydrogelu s a bez přidavku huminové kyseliny Leonardite zjistíme, že methylenová modř rychleji difunduje v čistém hydrogelu. U rhodaminu 6G je tato skutečnost opačná, tedy rychlejší difuze byla pozorována v gelu s obsahem huminové kyseliny. To znamená, že huminová kyselina Leonardite disponuje takovými funkčními skupinami, které zpomalují difuzi methylenové modři, ale naopak urychlují difuzi rhodaminu 6G. Tento závěr je však v rozporu se závěrem zjištěným na základě experimentů provedených metodou difuze v kyvetách, kde přidavek huminové kyseliny Leonardite způsobí snížení difuzního koeficientu rhodaminu 6G. To svědčí o tom, že přidavek huminové kyseliny, a tedy probíhající interakce ovlivňují difuzivitu barviv v použitých hydrogelech, která v tomto případě je koncentračně závislá. Jak již bylo uvedeno dříve, huminové kyseliny jsou složitým systémem, který v sobě skrývá velké množství rozmanitých aktivních center s různou afinitou k vybraným difuzním sondám, přičemž použitý model protichůdných reakcí prvního řádu je pravděpodobně pro tento komplexní systém příliš velkým zjednodušením a interakce mohou probíhat složitějším mechanismem.

5 ZÁVĚR

Bylo provedeno několik difuzních experimentů s cílem prostudovat transportní procesy v hydrogelech na bázi huminových kyselin. Na základě experimentů provedených se dvěma organickými barvivy, konkrétně methylenovou modří a rhodaminem 6G, bylo zjištěno, že přidavek huminové kyseliny do hydrogelové matrice agarosového gelu má značný vliv na difuzivitu studovaných barviv. Jejich difuzní koeficienty klesaly v tomto pořadí: Suwannee River II > Pahokee Peat > Elliott Soil > Leonardite. Více zadržovány pak byly molekuly methylenové modři. Tato skutečnost vedla k závěru, že huminové kyseliny pravděpodobně obsahují více aktivních míst, která jsou schopna interagovat s molekulami methylenové modři.

Při vyhodnocování experimentálně naměřených dat byly použity dva modely pro stanovení difuzního koeficientu – model difuze z konstantního zdroje do nekonečného média a model difuze v rovinné desce. První z těchto modelů byl považována za velice vhodný, jelikož jeho křivka rozložení koncentrace barviva v prostoru kyvety kopírovala naměřená data ve všech případech použitých difuzních médií. Druhý z uvedených modelů byl vhodný pouze v jednom případě difuzního média, a to u difuze methylenové modři agarosovým gelem s přidavkem huminové kyseliny Leonardite, kde byl difuzní koeficient barviva nejmenší, tedy docházelo k nejvýznamnějším interakcím. Z toho lze usuzovat, že se tento model nehodí aplikovat na experimentální data získaná difuzí v kyvetách za daných experimentálních podmínek (teplota, koncentrace barviva, koncentrace gelu, koncentrace huminových kyselin, aj.). Pro výpočty byl tedy stěžejní model difuze z konstantního zdroje do nekonečného média, jehož výsledné difuzní koeficienty se shodovaly (až na jednu výjimku) s difuzními koeficienty naměřenými metodou difuzních cel v rámci bakalářské práce.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] SKOKANOVÁ, Marianna a Katarína DERCOVÁ. Humínové kyseliny: pôvod a štruktúra. *Chemické Listy*. 2008, **102**(4), 262–268. ISSN 1213-7103
- [2] VESELÁ, Lenka, Martin KUBAL, Josef KOZLER a Petra INNEMANOVÁ. Struktura a vlastnosti přírodních látek typu oxihumolitu. *Chemické Listy*. 2005, **99**(10), 711–717. ISSN 1213-7103.
- [3] PIVOKONSKÝ, Martin, Lenka PIVOKONSKÁ, Petra BUBÁKOVÁ a Václav JANDA. Úprava vody s obsahem huminových látek. *Chemické Listy*. 2010, **104**(11), 1015–1022. ISSN 1213-7103.
- [4] STEVENSON, F. J. Humus chemistry: genesis, composition, reactions. 2nd ed. New York: Wiley, 1994. ISBN 04-715-9474-1.
- [5] DAVID, Jan a Jiří KUČEŘÍK. HUMINOVÉ LÁTKY – budoucnost "zelené" chemie? *ChemPoint – Vědci pro průmysl a praxi* [online]. Brno, 2017 [cit. 2017-01-17]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/huminove-latky>
- [6] STEINBÜCHEL, A a M HOFRICHTER. *Biopolymers. Volume 1, Lignin, humic substances and coal*. Weinheim: Wiley-VCH, 2001, 513 s. ISBN 3-527-30220-4.
- [7] PEÑA-MÉNDEZ, Eladia M., Josef HAVEL a Jiří PATOČKA. Humic substances – compounds of still unknown structure: applications in agriculture, industry, environment, and biomedicine. *Journal of Applied Biomedicine*. 2005, **3**(1), 13–24. ISSN 1214-0287
- [8] Source Materials for IHSS Samples. *IHSS* [online]. [USA]: International Humic Substances Society, 2016 [cit. 2017-01-20]. Dostupné z: <http://humic-substances.org/source-materials-for-ihss-samples/>
- [9] Isolation of IHSS Samples. *IHSS* [online]. [USA]: International Humic Substances Society, 2016 [cit. 2017-01-20]. Dostupné z: <http://humic-substances.org/isolation-of-ihss-samples/>
- [10] Methylene blue | C₁₆H₁₈ClN₃S – PubChem. In: *The PubChem Project* [online]. Maryland, USA: National Center for Biotechnology Information, 2017 [cit. 2017-01-24]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6099>
- [11] PAL, Umapada, Alberto SANDOVAL, Sergio Isaac Uribe MADRID, Grisel CORRO, Vivek SHARMA a Paritosh MOHANTY. Mixed titanium, silicon, and aluminum oxide nanostructures as novel adsorbent for removal of rhodamine 6G and methylene blue as cationic dyes from aqueous solution. *Chemosphere*. 2016, **163**, 142–152. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2016.08.020. ISSN 00456535. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653516310372>

- [12] PAULINO, Alexandre T., Marcos R. GUILHERME, Adriano V. REIS, Gilsinei M. CAMPESE, Edvani C. MUNIZ a Jorge NOZAKI. Removal of methylene blue dye from an aqueous media using superabsorbent hydrogel supported on modified polysaccharide. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2006, **301**(1), 55–62. DOI: 10.1016/j.jcis.2006.04.036. ISSN 00219797. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S002197970600333X>
- [13] Basic Red 1 | C28H31ClN2O3 – PubChem. In: *The PubChem Project* [online]. Maryland, USA: National Center for Biotechnology Information, 2017 [cit. 2017-01-24]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/13806>
- [14] GENDRON, P.-O., F. AVALTRONI a K. J. WILKINSON. Diffusion Coefficients of Several Rhodamine Derivatives as Determined by Pulsed Field Gradient–Nuclear Magnetic Resonance and Fluorescence Correlation Spectroscopy. *Journal of Fluorescence*. 2008, **18**(6), 1093–1101. DOI: 10.1007/s10895-008-0357-7. ISSN 1053-0509. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10895-008-0357-7>
- [15] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVA, M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 6th ed. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2010, s. 126–128, 216–221. ISBN 978-80-7080-745-3.
- [16] NOVÁK, J. a kolektiv. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*. 1st ed. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2008, s. 303–307, 400–404. ISBN 978-80-7080-675-3
- [17] POUCHLÝ, J. *Fyzikální chemie makromolekulárních a koloidních soustav*. 3rd ed. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2008, s. 150–168. ISBN 978-80-7080-674-6.
- [18] SERWER, Philip. Agarose gels: Properties and use for electrophoresis. *Electrophoresis*. 1983, **4**(6), 375–382. DOI: 10.1002/elps.1150040602. ISSN 0173-0835. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/elps.1150040602>
- [19] CLAR, Justin G., Carlos A. SILVERA BATISTA, Sejin YOUN, Jean-Claude J. BONZONGO a Kirk J. ZIEGLER. Interactive Forces between Sodium Dodecyl Sulfate-Suspended Single-Walled Carbon Nanotubes and Agarose Gels. *Journal of the American Chemical Society*. 2013, **135**(47), 17758–17767. DOI: 10.1021/ja4052526. ISSN 0002-7863. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ja4052526>
- [20] AYMARD, P., D. R. MARTIN, K. PLUCKNETT, T. J. FOSTER, A. H. CLARK a I. T. NORTON. Influence of thermal history on the structural and mechanical properties of agarose gels. *Biopolymers*. 2001, **59**(3), 131–144. DOI: 10.1002/1097-0282(200109)59:3<131::AID-BIP1013>3.0.CO;2-8. ISSN 1097-0282.
- [21] RENN, Donald W. Agar and agarose: indispensable partners in biotechnology. *Industrial & Engineering Chemistry Product Research and Development*. 1984, **23**(1), 17–21. DOI: 10.1021/i300013a004. ISSN 0196-4321. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/i300013a004>

- [22] BARRANGOU, Lisa M., Christopher R. DAUBERT a E. ALLEN FOEGEDING. Textural properties of agarose gels. I. Rheological and fracture properties. *Food Hydrocolloids*. 2006, **20**(2–3), 184–195. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2005.02.019. ISSN 0268005x. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X05001116>
- [23] STOKOLS, Shula, Jeff SAKAMOTO, Chris BRECKON, Todd HOLT, James WEISS a Mark H. TUSZYNSKI. Templated Agarose Scaffolds Support Linear Axonal Regeneration. *Tissue Engineering*. 2006, **12**(10), 2777–2787. DOI: 10.1089/ten.2006.12.2777. ISSN 1076-3279. Dostupné také z: <http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/ten.2006.12.2777>
- [24] HLAVÁČ, Jan. *Základy technologie silikátů*. Praha: SNTL-Nakladatelství technické literatury, 1981, s. 13–22.
- [25] GARCÍA-GUTIÉRREZ, M., J. L. CORMENZANA, J. MISSANA, M. MINGARRO a J. MOLINERO. Overview of laboratory methods employed for obtaining diffusion coefficients in FEBEX compacted bentonite. *Journal of Iberian Geology*. 2006, **32**(1), 37–53. ISSN 1698-6180.
- [26] 5. Diffusion Current. In: *Home – SolarWiki* [online]. 2013 [cit. 2017-02-13]. Dostupné z: https://photon.libretexts.org/The_Science_of_Solar/Solar_Basics/C._Semiconductors_and_Solar_Interactions/II._Conduction_in_Semiconductors/5._Diffusion_Current
- [27] SEDLÁČEK, Petr, Jiří SMILEK a Martina KLUČÁKOVÁ. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – 2. Non-stationary diffusion experiments. *Reactive and Functional Polymers*. 2014, **75**, 41–50. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2013.12.002. ISSN 13815148. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1381514813002629>
- [28] KLUČÁKOVÁ, Martina, Michal KALINA, Petr SEDLÁČEK a Laurent GRASSET. Reactivity and transport mapping of Cu(II) ions in humic hydrogels. *Journal of Soils and Sediments*. 2014, **14**(2), 368–376. DOI: 10.1007/s11368-013-0730-2. ISSN 1439-0108. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11368-013-0730-2>
- [29] KLUČÁKOVÁ, Martina a Michal KALINA. Diffusivity of Cu(II) ions in humic gels – influence of reactive functional groups of humic acids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2015, **483**, 162–170. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2015.05.041. ISSN 09277757. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775715004367>
- [30] ZHANG, Xian, Panyue ZHANG, Zhen WU, Ling ZHANG, Guangming ZENG a Chunjiao ZHOU. Adsorption of methylene blue onto humic acid-coated Fe₃O₄ nanoparticles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2013, **435**, 85–90. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2012.12.056. ISSN 09277757. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092777571300006X>

- [31] LUO, Wen-Jun, Qiang GAO, Xiao-Liang WU a Cheng-Gang ZHOU. Removal of Cationic Dye (Methylene Blue) from Aqueous Solution by Humic Acid-Modified Expanded Perlite: Experiment and Theory. *Separation Science and Technology*. 2014, **49**(15), 2400–2411. DOI: 10.1080/01496395.2014.920395. ISSN 0149-6395. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01496395.2014.920395>
- [32] FERNANDES, A. N., C. A. P. ALMEIDA, C. T. B. MENEZES, N. A. DEBACHER a M. M. D. SIERRA. Removal of methylene blue from aqueous solution by peat. *Journal of Hazardous Materials*. 2007, **144**(1–2), 412–419. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2006.10.053. ISSN 03043894. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389406012751>
- [33] JANOŠ, Pavel. Sorption of Basic Dyes onto Iron Humate. *Environmental Science*. 2003, **37**(24), 5792–5798. DOI: 10.1021/es020142o. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es020142o>
- [34] JANOŠ, Pavel, Pavel ŠEDIVÝ, Milena RÝZNAROVÁ a Sylvie GRÖTSCHELOVÁ. Sorption of basic and acid dyes from aqueous solutions onto oxihumolite. *Chemosphere*. 2005, **59**(6), 881–886. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.11.018. ISSN 00456535. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653504010677>
- [35] CHEN, Rongping, Yinlong ZHANG, Lianfeng SHEN, Xiaoyan WANG, Jianqiang CHEN, Aijun MA a Weimin JIANG. Lead(II) and methylene blue removal using a fully biodegradable hydrogel based on starch immobilized humic acid. *Chemical Engineering Journal*. 2015, **268**, 348–355. DOI: 10.1016/j.cej.2015.01.081. ISSN 13858947. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1385894715001114>
- [36] MARTYNIUK, Halina a Jadwiga WIECKOWSKA. Adsorption of metal ions on humic acids extracted from brown coals. *Fuel Processing Technology*. 2003, **84**(1–3), 23–36. DOI: 10.1016/S0378-3820(02)00246-1. ISSN 03783820. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378382002002461>
- [37] HAVELCOVÁ, Martina, Jiří MIZERA, Ivana SÝKOROVÁ a Miloslav PEKAŘ. Sorption of metal ions on lignite and the derived humic substances. *Journal of Hazardous Materials*. 2009, **161**(1), 559–564. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2008.03.136. ISSN 03043894. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389408005244>
- [38] ZHOU, Ping, Hui YAN a Baohua GU. Competitive complexation of metal ions with humic substances. *Chemosphere*. 2005, **58**(10), 1327–1337. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2004.10.017. ISSN 00456535. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0045653504009713>

- [39] MÖSER, Christina, Ralf KAUTENBURGER a Horst PHILIPP BECK. Complexation of europium and uranium by humic acids analyzed by capillary electrophoresis-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Electrophoresis*. 2012, **33**(9–10), 1482–1487. DOI: 10.1002/elps.201100652. ISSN 01730835. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/elps.201100652>
- [40] MANOHARAN, Vijayan, Aswathy RAVINDRAN a C. H. ANJALI. Mechanistic Insights into Interaction of Humic Acid with Silver Nanoparticles. *Cell Biochemistry and Biophysics*. 2014, **68**(1), 127–131. DOI: 10.1007/s12013-013-9699-0. ISSN 1085-9195. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s12013-013-9699-0>
- [41] CHEN, Wei, Chen QIAN, Xiao-Yang LIU a Han-Qing YU. Two-Dimensional Correlation Spectroscopic Analysis on the Interaction between Humic Acids and TiO₂ Nanoparticles. *Environmental Science*. 2014, **48**(19), 11119–11126. DOI: 10.1021/es502502n. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es502502n>
- [42] DE PAOLIS, Fabrizio a Jussi KUKKONEN. Binding of organic pollutants to humic and fulvic acids: influence of pH and the structure of humic material. *Chemosphere*. 1997, **34**(8), s 1693–1704. ISSN 0045-6535.
- [43] KHIL'KO, S. L. a R. G. SEMENOVA. Interaction of humic acid salts with drug preparations. *Solid Fuel Chemistry*. 2016, **50**(6), 390–394. DOI: 10.3103/S0361521916060057. ISSN 0361-5219. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.3103/S0361521916060057>
- [44] U, Juan, Han-Qing YU a Guo-Ping SHENG. Kinetics and thermodynamics of interaction between sulfonamide antibiotics and humic acids: Surface plasmon resonance and isothermal titration microcalorimetry analysis. *Journal of Hazardous Materials*. 2016, **302**(1), 262–266. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2015.09.058. ISSN 03043894. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0304389415301138>
- [45] SUTLOVIC, Davorka, Stjepan GAMULIN, Marija DEFINIS-GOJANOVIC, Dijana GUGIC a Simun ANDJELINOVIC. Interaction of humic acids with human DNA: Proposed mechanisms and kinetics. *Electrophoresis*. 2008, **29**(7), 1467–1472. DOI: 10.1002/elps.200700699. ISSN 01730835. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/elps.200700699>
- [46] TAN, Wen Feng, Luuk K. KOOPAL a Willem NORDE. Interaction between Humic Acid and Lysozyme, Studied by Dynamic Light Scattering and Isothermal Titration Calorimetry. *Environmental Science*. 2009, **43**(3), 591–596. DOI: 10.1021/es802387u. ISSN 0013-936x. Dostupné také z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/es802387u>
- [47] HESKETH, Nicholas, Malcolm N. JONES a Edward TIPPING. The interaction of some pesticides and herbicides with humic substances. *Analytica Chimica Acta*. 1996, **327**(3), 191–201. DOI: 10.1016/0003-2670(96)00081-5. ISSN 00032670. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0003267096000815>

- [48] SEDLÁČEK, Petr, Jiří SMILEK a Martina KLUČÁKOVÁ. How the interactions with humic acids affect the mobility of ionic dyes in hydrogels – Results from diffusion cells. *Reactive and Functional Polymers*. 2013, **73**(11), 1500–1509. DOI: 10.1016/j.reactfunctpolym.2013.07.008. ISSN 13815148. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1381514813001612>
- [49] SMILEK, Jiří, Michal KALINA, Marcela LAŠTŮVKOVÁ, Irena TÜRKEOVÁ, Petr SEDLÁČEK a Martina KLUČÁKOVÁ. Reactivity-Mapping Tool Based on Diffusion Techniques for Characterization of Biocolloids. *Materials Science Forum*. 2016, **851**, 130–134. DOI: 10.4028/www.scientific.net/MSF.851.130. ISSN 1662-9752. Dostupné také z: <http://www.scientific.net/MSF.851.130>
- [50] SMILEK, Jiří, Petr SEDLÁČEK, Marcela LAŠTŮVKOVÁ, Michal KALINA a Martina KLUČÁKOVÁ. Transport of Organic Compounds Through Porous Systems Containing Humic Acids. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 2017, **98**(3), 373–377. DOI: 10.1007/s00128-016-1926-0. ISSN 0007-4861. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s00128-016-1926-0>
- [51] KLUČÁKOVÁ, Martina a Miloslav PEKAŘ. Transport of copper(II) ions in humic gel—New results from diffusion couple. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2009, **349**(1–3), 96–101. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2009.08.001. ISSN 09277757. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775709004786>
- [52] SEDLÁČEK, Petr a Martina KLUČÁKOVÁ. Simple diffusion method applied in evaluation of metal transport in model humic matrices. *Geoderma*. 2009, **153**(1–2), 11–17. DOI: 10.1016/j.geoderma.2009.07.002. ISSN 00167061. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0016706109002109>
- [53] Elemental Compositions and Stable Isotopic Ratios of IHSS Samples. *IHSS* [online]. [USA]: International Humic Substances Society, 2016 [cit. 2017-03-08]. Dostupné z: <http://humic-substances.org/elemental-compositions-and-stable-isotopic-ratios-of-ihss-samples/>
- [54] SÁROVÁ, M. *Transportní vlastnosti huminových gelů*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 36 s. Vedoucí bakalářské práce doc. Ing. Martina Klučáková, Ph.D.

7 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

7.1 Použité symboly

Symbol	Význam symbolu	Jednotka
a_i	aktivitní koeficient	
A	difuzní plocha	m^2
	absorbance	
c_0	koncentrace barviva v gelu při započetí desorpce	$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$
c_i	koncentrace částic	$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$
c_{max}	maximální koncentrace barviva v gelu po sorpci	$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$
ΔC_{10}	koncentrační rozdíl difundující látky mezi celami	$\text{g}\cdot\text{dm}^{-3}$
D_{eff}, D_E	efektivní difuzní koeficient	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
D_i	difuzní koeficient částic	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
D_i^*	difuzní koeficient zahrnující vliv struktury gelu	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
D_L	zdánlivý difuzní koeficient	$\text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}$
f_i	koeficient tření	$\text{kg}\cdot\text{s}^{-1}$
$F_{\text{dif}}, F_{\text{tř}}$	hybná síla difuze, brzdná síla prostředí	N
G	Gibbsova energie	J
H	enthalpie	J
J_i	difuzní tok částic	$\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$
k_B	Boltzmannova konstanta	$\text{J}\cdot\text{K}^{-1}$
K_{ap}	zdánlivá rovnovážná konstanta	
l	tloušťka difuzního média, gelu	m
m_t	celkové množství částic	kg
n_i	látkové množství částic	mol
N_A	Avogadrova konstanta	mol^{-1}
r^*	rychlost chemické reakce v gelu	$\text{mol}\cdot\text{m}^{-3}\cdot\text{s}^{-1}$
r_i	poloměr částic	m
R	univerzální plynová konstanta	$\text{J}\cdot\text{K}^{-1}\cdot\text{mol}^{-1}$
S	entropie	
t	čas difuze	s
$t_{\text{desorpce}}, t_{\text{sorpce}}$	čas desorpční či sorpční části experimentu	s

t_L	čas zadržení	s
T	teplota	°C
u_i	rychlost pohybu částic	$\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$
V_i	objem roztoku	m^3
x	prostorová souřadnice, vzdálenost od rozhraní	m
β	konstanta aparatury	m^{-2}
ε	rozdělovací koeficient	
φ	efektivní podíl plochy	
η_0	viskozita disperzního prostředí	$\text{Pa}\cdot\text{s}$
λ	vlnová délka	m
μ	strukturní faktor	
μ_i	chemický potenciál částic	$\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}$
τ	tortuozita	
$\tilde{\nu}$	vlnočet	m^{-1}

7.2 Použité zkratky

Zkratka	Význam zkratky
C.I.	color index, označení barviva
DRIFTS	infračervená spektroskopie s difuzní reflektancí
FTIR	infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací
HA/EP	expandovaný perlit modifikovaný huminovými kyselinami
HA-Fe ₃ O ₄	nanočástic Fe ₃ O ₄ potažené huminovými kyselinami
IHSS	International Humic Substance Society
PVC	polyvinylchlorid
ST-HA	kompozit škrobu a huminové kyseliny
UV	ultrafialová oblast spektra elektromagnetického záření
VIS	viditelná oblast spektra elektromagnetického záření
XAD-8	vysoce absorpční pryskyřice používaná pro izolaci huminových látek